

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA
CENTRO DE ESTUDOS SUPERIORES DE BALSAS - CESBA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRICULTURA E AMBIENTE - PPGAA

CÉLIO PEREIRA CONCEIÇÃO DA SILVA

**EFICIÊNCIA DA BRACHIARIA (*Urochloa brizanta*) ASSOCIADA A FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES COMO POTENCIAL PARA
FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADOS COM ZINCO, MANGANÊS E
COBRE**

CÉLIO PEREIRA CONCEIÇÃO DA SILVA

**EFICIÊNCIA DA BRACHIARIA (*Urochloa brizanta*) ASSOCIADA A FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES COMO POTENCIAL PARA
FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADO COM ZINCO, MANGANÊS E
COBRE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA/CESBA/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Diniz de Oliveira

Balsas

2021

Silva. Célio Pereira Conceição da,

Eficiência da brachiária (*Urochloa brizanta*) associada a fungos micorrízicos arbusculares como potencial para fitorremediação de solos contaminado com zinco, manganês e cobre. / Célio Pereira Conceição da Silva. – Balsa,MA, 2022.

60 f.

Dissertação (Mestrado) – Curso de Programa de Pós Graduação em Agricultura e Ambiente, Centro de Estudo Superiores de Balsas, Universidade Estadual do Maranhão, 2022.

Elaborado por Giselle Frazão Tavares - CRB 13/665

CÉLIO PEREIRA CONCEIÇÃO DA SILVA

**EFICIÊNCIA DA BRACHIARIA (*Urochloa brizanta*) ASSOCIADA A FUNGOS
MICORRÍZICOS ARBUSCULARES COMO POTENCIAL PARA
FITORREMEDIAÇÃO DE SOLOS CONTAMINADO COM ZINCO, MANGANÊS E
COBRE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente – PPGAA/CESBA/UEMA, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Agricultura e Ambiente.

Orientador: Prof. Dr. Jorge Diniz de Oliveira

Banca Examinadora

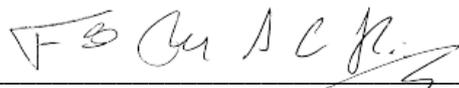


Dr. Jorge Diniz de Oliveira
Orientador

Doutor em Química pela Universidade Estadual Paulista-Araquara, Instituição: Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL



Dra Ivaneide de Oliveira Nascimento - Membro
Doutora em Agroecologia pela Universidade Estadual do Maranhão, Instituição: Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão – UEMASUL



Dr. Francisco Eduardo Aragão Catunda - Membro
Doutorado em Engenharia Civil com Ênfase em Saneamento Ambiental pela Universidade Federal do Ceará, Instituição: Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão - UEMASUL

Dedico à minha Mãe querida Rosa Pereira Conceição da Silva e a minha
Noiva Patrícia Silva Araújo.

*Então mire as estrelas e salte o mais alto que der
Tome distância, e faça o melhor que puder,
Só não se permita viver na sombra do talvez
Aqui só se vive uma vez!*

~Rosa de Saron – Mire as Estrelas

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo Dom da vida e por tudo que me permitiu viver até aqui.

À Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e ao Programa de Pós-Graduação em Agricultura e Ambiente (PPGAA) (responsável institucionalmente pela realização do Mestrado) e à Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL) que cooperaram de forma decisiva para realização da pesquisa e minha qualificação profissional.

Ao Prof. Dr. Jorge Diniz de Oliveira, muito mais que um orientador, um pai para mim, nunca desistiu de mim, mesmo quando tudo ficou difícil, quando eu não conseguia ver saída, sempre me mostrou a luz, pelo comprometimento em fazer ciência, pela grande disposição, motivação e clareza nas ideias durante a orientação, pelas exigências na escrita e rigor na construção da pesquisa e, sobretudo, pela confiança depositada em mim, mostrando que eu seria capaz de concluir a pesquisa. Muito obrigado, carregarei comigo seu exemplo de profissional e humanidade!

Aos amigos e colegas da turma do PPGAA 2019.1 pelo tempo em que estivemos juntos na cidade de Balsas, agradeço pela parceria. Agradeço em especial, aos colegas de Laboratório Ana Paula, Vaniele, Danilo e Nildo, por toda ajuda na pesquisa e também aos demais colegas do Laboratório de Pesquisa em Química Ambiental da UEMASUL. Muito obrigado!

RESUMO

O uso de fertilizantes e outros agrotóxicos para suprir as exigências nutricionais das culturas e aumentar a produção, tem gerado, em alguns casos, incremento de centenas de toneladas de metais potencialmente tóxicos ao solo contribuindo desta forma em alguns casos para o empobrecimento do mesmo. Entretanto, algumas espécies de plantas são capazes de sobreviver e adaptar-se em ambientes contaminados, além de remover grandes quantidades de poluentes, caracterizando-se como plantas fitorremediadoras. O presente estudo teve o objetivo de avaliar o potencial da braquiária (*Urochloa brizanta*) como fitorremediador através de análises das variáveis de desenvolvimento, além disso verificar o desempenho da mesma através da associação com os fungos micorrizas arbusculares. O Trabalho foi conduzido em casa de vegetação, com o delineamento inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 5x2, sendo 5 doses das espécies metálicas (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹) e 2 inoculações de FMA (sem e com FMA), totalizando 10 tratamentos com 4 repetições, resultando em 40 unidades experimentais. Os solos foram incubados com as espécies metálicas investigadas. A determinação da percentagem de matéria orgânica foi feita por calcinação a 550°C. Na determinação da capacidade de troca catiônica foi utilizado o método proposto por Cotta et al. (2006). Foram também determinados os parâmetros: altura de planta, comprimento de raiz, índice de clorofila, matéria fresca da parte aérea, matéria seca da parte aérea, matéria seca de raiz, % de colonização radicular e absorção de fósforo, nitrogênio e potássio. A extração de metais biodisponível do solo antes e após o plantio foi feita utilizando-se solução extratora de HCl 1 mol L⁻¹. Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando o programa estatístico R e a comparação das médias foi realizada utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. O solo apresentou baixa percentagem de matéria orgânica, caracterizando-se como um solo inorgânico. O metal que representou mais biodisponibilidade foi o Zn²⁺ com 473,867 mg kg⁻¹ na dopagem e 80 mg kg⁻¹ seguido pelo Mn²⁺ com 190,508 mg kg⁻¹ na dopagem de 10 mg kg⁻¹ e o que menos se encontrou biodisponível foi o Cu²⁺ com 2 mg kg⁻¹. A *Urochloa brizantha* apresentou um bom desenvolvimento em solo contaminado com as diferentes dosagens dos metais pesados.

Palavras Chave: Restauração de Solo. Capim Marandu. Fitorremediação.

ABSTRACT

The use of fertilizers and other pesticides to meet the nutritional requirements of crops and increase production has, in some cases, generated an increase of hundreds of tons of potentially toxic metals to the soil, thus contributing in some cases to its impoverishment. However, some plant species are able to survive and adapt to contaminated environments, in addition to removing large amounts of pollutants, characterized as phytoremediation plants. This study aimed to evaluate the potential of brachiaria (*Urochloa brizantha*) as a phytoremediator through analysis of development variables, in addition to verifying its performance through its association with arbuscular mycorrhizae fungi. The work was carried out in a greenhouse, with a completely randomized design (DIC) in a 5x2 factorial, with 5 doses of metallic species (0, 10, 20, 40 and 80 mg kg⁻¹) and 2 AMF inoculations (without and with FMA), totaling 10 treatments with 4 repetitions, resulting in 40 experimental units. The soils were incubated with the investigated metallic species. The determination of the percentage of organic matter was made by calcination at 550°C. In determining the cation exchange capacity, the method proposed by Cotta et al. (2006). Parameters were also determined: plant height, root length, chlorophyll index, shoot fresh matter, shoot dry matter, root dry matter, % root colonization and uptake of phosphorus, nitrogen and potassium. The extraction of bioavailable metals from the soil before and after planting was done using a 1 mol L⁻¹ HCl extracting solution. Data were subjected to analysis of variance using the R statistical program and the comparison of means was performed using the Tukey test at 5% probability. The soil had a low percentage of organic matter, characterizing itself as an inorganic soil. The metal that represented more bioavailability was Zn²⁺ with 473.867 mg kg⁻¹ in doping and 80 mg kg⁻¹ followed by Mn²⁺ with 190.508 mg kg⁻¹ in 10 mg kg⁻¹ doping and the one that was less bioavailable was Cu²⁺ with 2 mg kg⁻¹. *Urochloa brizantha* showed good development in soil contaminated with different dosages of heavy metals.

Keywords: Soil Restoration. Marandu grass. Phytoremediation.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Biodisponibilidade dos metais Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} no solo analisado antes do plantio. 2
- Figura 2.** Concentração de Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} no lixiviado dos solos analisado sem o F.M.A. 2
- Figura 3.** Concentração de Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} no lixiviado dos solos analisado com o F.M.A. 2
- Figura 4.** Vista do Plantio após o desbaste. Fonte: Autor 2019 **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 5.** Sementes de *Brachiaria* (*Urochloa Brizantha*). Fonte: Autor 2019 **Erro! Indicador não definido.**
- Figura 6.** “A” Vasos confeccionados para a instalação do experimento; “B” Vasos preenchidos e experimento instalado. Fonte: Autor, 2019 2
- Figura 7.** Experimento poucos dias antes da coleta. Fonte: Autor, 2019 2
- Figura 8.** “A” Pesagem do solo para extração dos esporos; “B” Processo de agitação do solo para extração. Fonte: Autor, 2019 2
- Figura 9.** “A” Processo de peneiramento do líquido; “B” Processo de Centrifugação do solo contido na amostra. Fonte: Autor, 2019 2
- Figura 10.** Inoculação dos esporos ao solo. Fonte: Ana Paula 2020 2
- Figura 11.** “A” Altura da planta com auxílio de uma fita métrica, “B” Comprimento da raiz e “C” Corte realizado na base da planta para Separação da parte aérea e raiz. Fonte: Autor, 2020. 2
- Figura 12.** Pesagem da Massa Fresca da Parte Aérea e Raiz. Fonte: Autor, 2020 2
- Figura 13.** Pesagem da massa seca da parte Aérea e Raiz. Fonte: Autor, 2020 2
- Figura 14.** Raízes armazenadas em glicerol 50% (fonte: autor 2020) 2
- Figura 15.** Colonização micorrízica em placa de petri pelo método de Giovanetti e Mosse (1980). Fonte: mycorrhizas.info, 2008 2
- Figura 16.** Exemplificação da contagem de esporos para obtenção da porcentagem de colonização micorrízica na raiz do sombreiro. Fonte: mycorrhizas.info, 2008 2
- Figura 17.** Massa fresca da parte aérea em função dos 10 tratamentos analisados. 2
- Figura 18.** Massa seca da parte aérea em função dos tratamentos 2

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Tratamentos utilizados no teste no experimento conduzido em casa de vegetação, utilizando fungo micorrízicos arbusculares (FMA). 25
- Tabela 2.** Valores médios de pH em água, pH em KCl, CTC e Matéria Orgânica. 27
- Tabela 3.** Concentração dos metais Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} biodisponíveis no solo antes e após o plantio. 29
- Tabela 4.** Tratamentos utilizados no teste de fitorremediação utilizando fungo micorrízicos arbusculares (FMA) e doses dos sais de Zinco (II), Manganês (II) e Cobre (II). 36
- Tabela 5.** Tabela 5. Média dos parâmetros de altura da planta, comprimento da raiz e índice de clorofila analisados em função dos dez tratamentos estudados com *Urochloa brizantha*. 47
- Tabela 6.** Média dos valores encontrados para massa fresca e seca da parte aérea e massa fresca e seca da raiz em função dos dez tratamentos estudados com *Urochloa brizantha*. 47

LISTA DE SIGLAS

FMA: Fungo Micorriza Arbuscular

s/FMA: Sem Fungo Micorriza Arbuscular

c/FMA: Com Fungo Micorriza Arbuscular

pH: Potencial Hidrogeniônico

ZN: Zinco

MN: Manganês

CU: COBRE

M.O.: Matéria orgânica

MPT: Metais Potencialmente Tóxicos

HCL: Ácido clorídrico

CTA: Capacidade de troca aniônica

CTC: Capacidade de troca catiônica

HCL: Ácido clorídrico

MB: Metais biodisponíveis

KCL: Cloreto de Potássio

FAAS: Espectrometria de absorção atômica em chama

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	15
REFERÊNCIAS	19
AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS NOS SOLOS DURANTE O EXPERIMENTO	23
CAPÍTULO 1	23
1 INTRODUÇÃO	23
2 MATERIAL E MÉTODOS	24
2.1 Preparação do Solo	24
2.2 Determinação de pH em H ₂ O e KCl	25
2.3 Estimativa das cargas do solo (⊗pH)	26
2.4 Determinação da Capacidade de Troca Catiônica - CTC	26
2.5 Determinação de metais biodisponíveis no solo antes do plantio	26
2.6 Análise de Dados	27
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
4 CONCLUSÃO	31
REFERÊNCIAS	32
MATERIAL E MÉTODOS GERAIS DO EXPERIMENTO COM A <i>UROCHLOA BRIZANTA</i>	34
CAPÍTULO 2	34
1 ÁREA DE ESTUDO E COLETA DE DADOS	34
1.1 Banco de Amostras e local do Experimento	34
1.2 Preparação do Solo	34
1.3 Aquisição das sementes	34
1.4 Instalação do experimento	35
1.5 Extração dos esporos dos solos	37
1.6 Parâmetros de desenvolvimento da planta	40
1.7 Coloração e contagem de raízes colonizadas	42
REFERÊNCIAS	44
AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E TOLERÂNCIA DA <i>UROCHLOA BRIZANTA</i>, ASSOCIADA A MICORRIZAS ARBUSCULARES EM SOLOS CONTAMINADOS COM ZINCO, MANGANÊS E COBRE	45

CAPÍTULO 3	45
1 INTRODUÇÃO	45
2 MATERIAIS E MÉTODOS	46
2.1 Análise de Dados	46
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
4 CONCLUSÃO	50
REFERÊNCIAS	51

INTRODUÇÃO GERAL E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO

A aplicação indiscriminada de fertilizantes para suprir as exigências nutricionais das culturas e aumentar a produção de alimentos, tem gerado, em alguns casos, incremento de centenas de toneladas de metais potencialmente tóxicos ao solo. Dessa forma, em alguns casos, essa forma de utilização do solo contribui com o empobrecimento do solo através das atividades agrícolas exercidas, com isso modificando suas características químicas, físicas e biológica (SILVA, FELIZMINO; OLIVEIRA, 2015).

Os metais potencialmente tóxicos (MPT) tais como Zn, Mn, Ni, Cd e Cu podem ter a sua quantidade aumentada nos solos devidos a ações antropogênicas, tais como adubações sucessivas, principalmente dos fertilizantes fosfatados, devido à ocorrência destes nas rochas fosfatadas, como a apatita, empregada como matéria prima para classe de fertilizantes ,(LIMA, 2011; ESTRELA; GAROFALO CHAVES; SILVA, 2018) a produtos como lodo de esgoto, composto de lixo urbano e resíduos de indústria de mineração (CARVALHO; ORSINE, 2011), bem como a utilização de água de irrigação poluída e/ou contaminada).

A acumulação de metais pesados nos solos e águas representa um risco para a saúde ambiental e humana. Estes elementos acumulam-se nos tecidos corporais dos organismos vivos e suas concentrações aumentam à medida que passam pelos níveis tróficos, causando biomagnificação. No solo, os metais potencialmente tóxicos causam efeitos toxicológicos na microbiota do solo, o que pode levar a uma diminuição de atividades (FAROOQ et al., 2010).

Estas espécies metálicas encontradas em pequenas concentrações têm implicações significativas na fisiologia das plantas, controle de ativação enzimática e fixação de nitrogênio, no entanto, em concentrações tóxicas prejudicam as plantas e os organismos vivos, afetando seus órgãos, alterando processos bioquímicos, organelas e membranas celulares, além de originar problemas de saúde pública (OLIVEIRA; OLIVEIRA 2011).

A principal causa deste problema está relacionada ao fato de os metais potencialmente tóxicos serem altamente reativos e bioacumuláveis, ou seja, os organismos são incapazes de eliminá-los quimicamente (OLIVEIRA e OLIVEIRA 2011), ficando retidos no ecossistema. Todavia, mesmo em pequenas quantidades, alguns desses metais podem ser

prejudiciais aos organismos, por formarem complexos estáveis com as biomoléculas (BISINOTI; YABE; GIMENEZ, 2004).

1.1 Fitorremediação

A taxa de absorção de MPTs, no solo pelas raízes de plantas terrestres é tipicamente baixa. Entretanto, algumas espécies de plantas são capazes de sobreviver e adaptar-se em ambientes contaminados com metais potencialmente tóxicos, além de remover grandes quantidades de poluentes, caracterizando-se como plantas fitorremediadoras (DAZY, et al., 2009; SANTOS et al., 2011; NADGÓRSKA-SOCHA; KANDZIORA-CIUPA; CIEPAŁ, 2015).

A fitorremediação é uma técnica de descontaminação da água e do solo, que associa o emprego de plantas, de sua microbiota, do solo e de práticas agronômicas que, em conjunto, possam garantir a remoção ou imobilização de contaminantes do ambiente (MONQUEIRO et al., 2013). Essa técnica consiste no emprego de plantas que absorvem ou acumulam contaminantes orgânicos ou inorgânicos presentes no solo, mediante o uso de processos como a fitoestabilização e fitoextração (SOUZA, 2011).

Considerada uma técnica relativamente barata, de fácil aplicação e sustentável quando comparada a métodos químicos utilizados para a remoção de metais potencialmente tóxicos presentes no solo (WENZEL, 2009; ZALEWSKA, 2012; ZALEWSKA; NOGALSKA, 2014). Nos últimos 20 anos, essa tecnologia tornou-se popularmente empregada em solos contaminados por diversos poluentes, tais como: chumbo, cádmio, urânio, arsênio, cromo, entre outros (ULLAH et al., 2011), tendo se tornado uma alternativa economicamente viável e esteticamente aceitável (LONE, et al., 2010; NADGÓRSKA-SOCHA; KANDZIORA-CIUPA; CIEPAŁ, 2015).

Uma planta fitoextratora ideal deve ter como principais características a tolerância à alta concentração do poluente presente no solo, rápido crescimento, baixa exigência de água, eficiência na remoção do poluente, não ser invasiva e apresentar certa resistência a pragas e doenças, bem como, possuir baixa exigência de insumos e ser de fácil colheita (HERZIG et al., 2014). A eficiência da fitoextração pode ser aprimorada ao utilizar cultivares selecionadas e geneticamente melhoradas, aliada a boas técnicas de cultivo (NEHNEVAJOVA et al., 2009; VANGRONSVELD et al., 2009; HERZIG et al., 2014).

1.2 *Urochloa brizanta*

As espécies de gramíneas pertencem ao gênero *urochloa*, podem ser utilizadas para fitorremediação de solos contaminados com metais potencialmente tóxicos, sendo capazes de remover grandes quantidades de cádmio, zinco, níquel, crômio e chumbo (SANTOS et al., 2005; MARTINEZ; CRUVINEL; BARRATO, 2012), arsênio (ANTUNES ARAÚJO et al., 2011), o capim braquiária mostra-se eficiente não apenas na fitorremediação de solos com contaminação correspondente ao grau de intervenção como apresenta um potencial de tolerância de alta concentrações de metais no solo.

Guirra et al (2011) verificaram que o capim marandu, também conhecido popularmente como capim-braquiário uma gramínea classificada como *Urochloa brizantha* (Embrapa,1999), apresentou alta tolerância a toxidez de Mn, atingindo alto teor foliar na parte aérea sem afetar o crescimento da planta. Por sua vez, Tolentino et al (2014), em estudo de especiação de cádmio em *Urochloa brizantha* e biodisponibilidade dos macro e micronutrientes verificaram que, apesar das variações nos teores e translocação dos nutrientes, as doses de Cd utilizadas não causaram alteração no crescimento de *Urochloa brizantha*, fato atribuído à tolerância da planta a este metal tóxicos.

A tolerância de plantas e microrganismos aos metais potencialmente tóxicos tem sido estudada do ponto de vista de remoção do excesso do metal do solo ou diminuição da disponibilidade destes nos sistemas biológicos, sendo considerável o interesse biotecnológico (BERTOLAZI et al., 2010; SCHNEIDER et al., 2012^a; GARCIAS et al., 2017).

Na visão de Oliveira (2009), citado por Amado e Chaves Filho (2015), é imprescindível o investimento em estudos que estejam direcionados na hiperacumulação de metais potencialmente tóxicos com espécies florestais de clima tropical, que podem ser encontradas com facilidade no bioma Cerrado, visto que costumam crescer em áreas que são naturalmente ácidas e ricas em metais.

A fitorremediação ainda precisa de estudos mais amplos sobre a variedade de plantas e suas propriedades remediadoras, além disso, é necessário desenvolver pesquisas que viabilizem melhoramento genético dessas componentes arbóreas e sua aplicabilidade. A utilização eficiente de plantas em tratamentos que removem metais potencialmente tóxicos ainda é dependente de melhores compreensões dos mecanismos envolvidos, sobretudo, daqueles nos quais envolvem custos de investimento em função do tempo decorrido de despoluição (VASCONCELOS, 2012).

1.3 Fungos Micorrizas Arbusculares

Atenção especial tem sido dada aos fungos micorrízicos arbusculares (FMAs) como atenuadores da fitotoxidez causada pelos MPTs, principalmente os presentes em produtos utilizados na agricultura como Co, Cd, Cr, Fe, Mn, Ni, Pb, As, Sn e Zn. Muitos desses elementos formam complexos estáveis com biomoléculas e sua presença em até mesmo pequenas quantidades podem causar prejuízo a animais e vegetais.

Para Schneider et al (2012), plantas micorrizadas podem apresentar maior tolerância a diversos metais e, de modo compensatório, conferir ao fungo simbiote vantagens na sobrevivência em local contaminado. Sabe-se que esses fungos (FMAs) aumentam a capacidade das espécies vegetais tolerarem os estresses proporcionados por MPTs e pigmentos extracelulares como a melanina, devido à diminuição da fitotoxidez dos contaminantes resultantes de mecanismo de precipitação de metais potencialmente tóxicos, relacionados à adsorção de espécies metálicas (BERTOLAZI, 2010; SCHNEIDER et al., 2013).

Segundo Cornejo et al (2008), os FMAs liberam substâncias orgânicas, como a glomalina, que pode ser um mecanismo altamente eficiente, pois a mesma realiza o sequestro de metais potencialmente tóxicos, promovendo melhoras nas condições ambientais, podendo levar a estabilização de solos que estão com altos teores destes elementos. Ainda os FMA podem armazenar Cu, por exemplo, em compartimentos celulares, tais como, esporos e vesículas, onde a taxa metabólica é reduzida, trazendo benefícios ao crescimento das plantas e aos FMAs (CORNEJO et al., 2013).

Em alguns casos, plantas micorrizadas podem aumentar a absorção de metais potencialmente tóxicos e transportá-los das raízes para a parte aérea (fitoextração), (LEUNG et al., 2010) e em outros casos, os FMAs podem contribuir para a imobilização destes no solo (fitoestabilização) (SCHNEIDER et al., 2013).

O resultado da colonização micorrízica na redução dos teores de contaminantes em solos contaminados dependerá da combinação planta-fungo-metais potencialmente tóxicos (SMITH et al., 2010; SCHNEIDER et al., 2013).

Neste contexto, a simbiose do da braquiária e FMAs mostra-se uma alternativa promissora para o estudo visando a recuperação de áreas contaminadas por Zn, Mn e Cu. Sendo assim objetivou-se nesta pesquisa verificar a performance da gramínea braquiária da espécie *Urochloa brizantha*, quanto a sua tolerância em solos artificialmente contaminados com metais potencialmente tóxicos tais como Zn, Mn, e Cu através das análises de parâmetros fisiológicos em solos do município de Imperatriz-MA e, ainda, ampliar o conhecimento do desempenho do

uso da braquiária associada a fungos micorrizos arbusculares na remoção desses metais potencialmente tóxicos nos solos.

1.4 Os Metais potencialmente tóxicos e a Contaminação dos solos

A poluição ambiental causada por metais potencialmente tóxicos tornou-se um sério problema no mundo. A mobilização de metais pesados através de extração de minérios e posterior processamento para diferentes aplicações levou à liberação desses elementos no meio ambiente. Ao contrário de substâncias orgânicas, metais são essencialmente não biodegradáveis e, portanto, se acumulam no ambiente (ALI, 2013).

O solo tem-se apresentado com grande quantidade de contaminantes metálicos, que são oriundos principalmente de atividades antrópicas como a industrialização. Esses solos são nocivos a diversas espécies vegetais, e também a sua microbiota (KABATA-PENDIAS; PENDIAS, 2001). Observa-se também que a contaminação pode atingir cursos de água como os rios, depósitos de água subterrâneos e provocar graves problemas ambientais.

Os metais potencialmente tóxicos usualmente considerados como metal pesado deve ter como característica massa específica elevada com valor maior que 5 g cm^{-3} ou número atômico maior que 20 (MALAVOLTA, 2006). Dentre os elementos conhecidos 53 são metais pesados, ferro (Fe), manganês (Mn), zinco (Zn) e cobre (Cu) se destacam como micronutrientes essenciais às plantas. Enquanto níquel (Ni), cobalto (Co), cromo (Cr) e chumbo (Pb) são elementos tóxicos, com maior ou menor importância como elementos traços (BENAVIDES *et al.*, 2005). Atualmente, o conceito de metal pesado além das propriedades químicas tem sido associado com contaminações e potencial toxicidade (LIMA; MERÇON, 2011).

Em concentrações acima de um dado limite, os metais essenciais e não essenciais resultam em fitotoxicidade. As plantas respondem à toxidez por metais potencialmente tóxicos através de alterações estruturais, fisiológicas e bioquímicas que estão relacionadas com tipo e concentração do metal e do tempo de exposição das plantas a esses elementos. Entre as principais alterações estão: 1) os mecanismos de absorção, transporte e acumulação dos metais pelas plantas; 2) mecanismos primários de toxidez a nível molecular, celular e subcelular; 3) mecanismos secundários de interferência com os processos funcionais das plantas; 4) mecanismos de respostas homeostáticas que, em alguns casos, conduzem a mecanismos de tolerância frente ao metal pesado (MACEDO; MORRIL, 2008).

Os metais potencialmente tóxicos encontrados no solo podem ser naturais de origens litogênicas, que estão relacionadas às fontes geológicas, advindos de rochas que sofreram processo de intemperismo (PEREIRA *et al.*, 2010). E origens antropogênicas, que pode ocorrer de diversas formas, como através de atividades agrícolas na implementação de compostos, pesticidas e fertilizantes, irrigação, por rejeitos orgânicos e industriais, da mineralização (MELLONI *et al.*, 2006). Para o monitoramento de áreas suspeitas de contaminação, o conhecimento dos teores naturais de metais pesados nos solos é essencial.

Alguns solos possuem uma grande capacidade de retenção de metais potencialmente tóxicos, mas se essa capacidade for ultrapassada, os metais presentes no meio podem comprometer a qualidade dos ecossistemas, ser lixiviados, colocando em risco a qualidade das águas subterrâneas e superficiais, como entrar na cadeia alimentar dos organismos vivos. Da mesma forma, uma vez aplicados ao solo, os metais podem sofrer transformações químicas, que podem resultar na biodisponibilização de formas anteriormente não disponíveis (COSTA, 2005). Assim, é necessário um monitoramento que estabeleça indicadores capazes de servir como referência para a avaliação continuada dos impactos ambientais causados pelas atividades antrópicas sobre os solos (PAYE, 2010).

A Resolução do CONAMA n° 420 (BRASIL, 2009) facilita a análise de contaminação e a criação de indicadores que controlem e tratem das áreas que apresentem esses metais, por meio dos níveis de referência para teores tanto de metais quanto de outras substâncias químicas em solos e águas subterrâneas.

Além disso, outro princípio a ser considerado é o grau no qual esses metais potencialmente tóxicos estão expostos no solo, uma vez que isso está diretamente associado a quantidade biodisponível no ambiente, posto que os íons livres do metal podem estar relacionados a matéria orgânica, reduzindo a biodisponibilidade (MUNIZ; OLIVEIRA FILHO, 2006).

1.5 Elemento Manganês (Mn)

O manganês é um dos elementos mais abundantes no solo, e possui função importante para o crescimento vegetal, é essencial à síntese de clorofila e na fotossíntese (PUGA, 2011; TAIZ; ZEIGER, 2004). Além disso, age ativando enzimas, que possuem papel indireto na síntese de proteínas e na multiplicação celular (MALAVOLTA, 1980). Também atua essencialmente na alongação celular, sendo que sua deficiência pode reduzir o crescimento das raízes (PRADO, 2008).

O excesso de manganês leva a toxicidade do solo, especialmente em solos tropicais ácidos, afetando o crescimento e a produtividade das culturas (ZABINI *et al.*, 2007). No solo o Mn é encontrado principalmente envolvido na estrutura dos minerais e como complexos relacionados à matéria orgânica (OLIVEIRA; NASCIMENTO, 2006).

Em geral, ocorre no meio natural em três formas: Mn^{2+} (em solução) Mn^{3+} (altamente reativo) e como Mn^{4+} (óxidos de grande estabilidade). Essas formas encontram-se em equilíbrio dinâmico, em que a maior estabilidade de Mn^{2+} ocorre em meios com pH baixo e condições redutoras (ALLOWAY, 1995; THORNTON, 1995). As plantas absorvem o Mn na forma Mn^{2+} , ou seja, na solução do solo.

1.6 Elemento Zinco (Zn)

O zinco é um elemento que está presente em praticamente todos os ambientes. Ele se apresenta no solo como Zn orgânico e inorgânico, e está disponível principalmente como Zn^{2+} , ou complexado com ligantes orgânicos (SANTOS 2005, BROADLEY *et al.* 2007).

Dentre os metais pesados o Zn é considerado micronutriente essencial para muitos organismos e influencia no crescimento da planta. Ele possui ainda, a função de catalisador e atua em várias tarefas celulares como por exemplo, no metabolismo de proteínas, de carbono fotossintético e do ácido indol acético (SINHAL, 2007).

Os indícios de toxicidade e deficiência de Zn nas plantas são semelhantes, geralmente afetam o crescimento dos caules e das raízes (CHAVES; SOUZA, 2015). A toxicidade de Zn altera as características das células da raiz causando aumento da permeabilidade das membranas radiculares, e isso faz com que os nutrientes sejam perdidos pelas raízes (KABATA – PENDIAS; PENDIAS 1992).

Além disso a toxicidade do Zn em plantas tem como consequência a redução na produção de matéria seca da parte aérea, e da biomassa radicular; necrose da radícula ao entrar em contato com o solo; morte da plântula e inibição do crescimento vegetal (CARNEIRO *et al.*, 2002, LI *et al.*, 2011).

1.7 Fitorremediação

A fitorremediação é uma técnica que surgiu no início da década de 1990, dentro da biorremediação, é uma das técnicas mais estudadas. Os Estados Unidos e Europa são os pioneiros dessa técnica, onde tem sido identificadas algumas espécies de comprovada

eficiência. No Brasil existem poucos estudos nessa área e ainda são pouco difundidas essas práticas (SANTOS *et al.*, 2004).

Essa técnica faz o uso de plantas para recuperação de solo e água contaminadas especialmente por metais (AGNELLO, 2015). Os vegetais com esse potencial são capazes de imobilizar, conter e tornar baixo nível de contaminantes persistentes (VIDALI, 2001). Nos ecossistemas naturais, as plantas atuam como filtros e metabolizam substâncias geradas pela natureza.

A fitorremediação é uma técnica de descontaminação da água e do solo, que associa o emprego de plantas, de sua microbiota, do solo e de prática agrônômica que, em conjunto, possam garantir a remoção ou imobilização de contaminantes do ambiente (ACCIOLY; SIQUEIRA, 2004; MONQUERO *et al.*, 2013), sendo considerada uma tecnologia efetiva não destrutiva, econômica e sobretudo socialmente aceita para remediar solos poluídos (GARBUSU; ALKORTA, 2001).

Mazucco afirmava em 2008, que se gastava aproximadamente 25 bilhões de dólares na utilização de técnicas convencionais de despoluição ambiental e, com o aumento das exigências da sociedade e aplicabilidade de leis mais rígidas são adotadas, cresce também os investimentos para tratar resíduos agrícolas, industriais e rejeitos humanos.

Entre os benefícios dessa técnica estão: menor custo em relação às técnicas tradicionais, podem também auxiliar na degradação de xenobióticos a compostos não tóxicos feita internamente nas plantas, contribui para a melhoria das propriedades químicas, físicas e biológicas do solo, e além disso, reestabelecer a estética do ambiente (PROCÓPIO *et al.* 2009).

A remediação utilizando vegetais tem como respaldo a execução de variadas medidas com finalidade de tratar e reduzir o material contaminado no solo (SANTOS; NOVAK, 2013). Ela pode ser uma estratégia promissora de remediação *in situ*, e apresenta inúmeras vantagens podendo ser utilizada em grande escala para a descontaminação de áreas.

Para uma planta ser considerada fitorremediadora ela precisa possuir certas características como uma taxa de crescimento acelerada, sistema radicular profundo, boa capacidade de absorção, fácil colheita, e todas devem apresentar uma aptidão em comum: serem tolerantes e apresentarem grande resistência ao poluente, inclusive os de origem antropogênica (AMADO; FILHO, 2015). Solos contaminados apresentam certas limitações à fitorremediação por serem, muitas vezes, tóxicos às plantas, principalmente onde ocorrem misturas de poluentes, o que dificulta a seleção de plantas resistentes e fitorremediadoras para este conjunto de compostos (COUTINHO, 2007).

Existem diversos mecanismos na fitorremediação que podem ser empregados, dependendo do tipo de contaminante, e a planta pode utilizar diferentes meios para sua remoção. A seguir são apresentadas algumas das principais formas de fitorremediação encontradas na literatura:

- Fitoextração ou fitoacumulação: é o mecanismo mais utilizado para absorver metais. Ele consiste na absorção do contaminante e armazenamento do mesmo nos tecidos da planta, na raiz, caule e folhas. As plantas que são tolerantes à elevadas concentrações do contaminante são chamadas de hiperacumuladoras (SILVA, 2019).
- Fitoestabilização: Trata-se da diminuição da biodisponibilidade e mobilidade de metais pesados nos solos através das reações de absorção e acumulação, adsorção e/ou precipitação na zona das raízes (PULFORD; WATSON, 2003).
- Fitovolatilização: alguns íons de elementos dos subgrupos II, V e VI da tabela periódica (mercúrio, selênio e arsênio), são absorvidos pelas raízes, convertidos em formas não tóxicas e depois liberados na atmosfera (OLIVEIRA *et al.*, 2009).
- Fitoestimulação: as raízes em crescimento induzem o das populações de microorganismos degradativos na rizosfera, que usam os metabólitos exudados da planta como fonte de carbono e energia. Esta técnica limita-se a compostos orgânicos (OLIVEIRA *et al.*, 2009).
- Fitodegradação: utiliza o metabolismo da planta e microrganismos da rizosfera para conseguir a quebra de contaminantes. Estes mecanismos podem acontecer internamente, através de processos metabólicos, ou externamente, por enzimas específicas produzidas pela planta no solo (MEJÍA, 2014).

Recentemente, várias pesquisas, têm apresentado a eficácia dessa técnica em diversos ecossistemas contaminados por compostos orgânicos e inorgânicos (TAVARES; SALGADO, 2013; GARÓFALO CHAVES; SOUZA 2015, BOFFE *et al.*, 2017). Puga *et al.* (2015) estudando *Canavalia ensiformis* destaca que essa espécie possui potencial fitorremediador, por apresentar alta tolerância a metais como Pb e Zn e ser uma boa produtora de biomassa. Considerando esse contexto, Lima *et al.* (2008), avaliaram o potencial de fitoextração de duas espécies vegetais, o nabo forrageiro (*Raphanus sativus L.*) e a aveia preta (*Avena strigosa Schreb*) em um Argissolo contaminado por Cd. Contextualizando a questão, Zeitouni *et al.* (2007), avaliaram o potencial fitoextrator de girassol, mamoneira, tabaco e pimenta da Amazônia para contaminações de Cd, Pb, Cu, Ni e Zn.

REFERÊNCIAS

AMADO, S.; CHAVES FILHO, J. T. Fitorremediação: uma alternativa sustentável para remediação de solos contaminados por metais pesados. **Natureza online**, v. 13, n. 4, p. 158-164, 2015.

ANTUNES ARAÚJO, A. S. GULHERME, L. R. G.; LOPES, G.; CAMPOS, M. L. **Fitorremediação de solos contaminados com arsênio(As) utilizando braquiária. Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 84-91, jan./fev. 2011.

ARAÚJO, A. S. A.; GUILHERME.; L. R. G.; CAMPOS, G. L. M. L. Fitorremediação de solos contaminados com arsênio (as) utilizando braquiária Phytoremediation of arsenic contaminated soils using Brachiaria grass. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n.1, p.84-91, 2011.

ARAÚJO, A. S. A.; GUILHERME.; L. R. G.; CAMPOS, G. L. M. L. Fitorremediação de solos contaminados com arsênio (as) utilizando braquiária Phytoremediation of arsenic-contaminated soils using Brachiaria grass. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, 2011.

BERTOLAZI, A.A; CANTONI, G. C.; AZEVEDO, I. G.; CRUZ, Z. M. A.; SOARES, D. N. E.S.; CONCEIÇÃO, J. M.; SANTOS, W. O.; RAMOS, A. O papel das ectomicorrizas na biorremediação dos metais pesados no solo. **Natureza on line**, v.8, n.1 p. 24-31, 2010.

BERTOLAZI, A. A; CANTONI, G. C.; AZEVEDO, I. G.; CRUZ, Z. M. A.; SOARES, D. N.BEVILACQUA, J. E.; SILVA, I. S.; CÉSAR MASINI, Extração seletiva de metais pesados mm sedimentos de fundo do rio Tietê, São Paulo. **Química Nova**, n. 32, n. 1, p.26-33, 2009

BISINOTI MC, YABE MJS, GIMENEZ SMN; Avaliação da influência de metais pesados no sistema aquático da bacia hidrográfica da cidade de Londrina – PR. **Revista Analytica** 8: 22-27, 2004.

CARVALHO, J. .; ORSINE, J. . CONTAMINAÇÃO DO MEIO AMBIENTE POR FONTES DIVERSAS E OS AGRAVOS À SAÚDE DA POPULAÇÃO. **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, [S. l.], v. 7, n. 13, 2011. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/4197>. Acesso em: 25 out. 2021.

CONTRERAS-CORNEJO, H.A.; MACÍAS-RODRÍGUEZ, L.; CORTÉS-PENAGOS, C. E LÓPEZ-BICIO, J. (2009) - *Trichoderma virens*, a plant beneficial fungus, enhances biomass production and promotes lateral root growth through an auxin-dependent mechanism in *Arabidopsis*. **Plant Physiology**, 149, 3:1579–1592

DAZY, M.; BÉRAUD, E.; COTELLE, S.; GRÈVILLIOT, F.; ÉRARD, J.F.; MASFARAUD, J. F. Changes in plant communities along soil pollution gradients: responses of leaf antioxidant enzyme activities and phytochelatin contents. **Chemosphere**, v. 77, n. 3, p. 376–383, (2004).

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas**.

ESTRELA, M. A.; GAROFALO CHAVES, L. H.; SILVA, L. N. Fitorremediação como solução para solos contaminados por metais pesados. **Revista Ceuma Perspectivas**, v. 31, p. 160-172, 2018.

GARCIA, K. G. V.; GOMES, V. F. F.; MENDES FILHO, P. F.; MARTINS, C. M.; GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal Endogone species Extracted from soil wet sieving and decanting. **Transactions of British Mycological Society**, Cambridge, v. 46, n. 2, p. 235-244, Apr. 1963.

GUIRRA, A. P. P. M.; FIORENTIN, C. F.; PRADO, R. M.; CAETANO, M. C. T.; FELICI, C. Tolerância do capim marandu a doses de manganês. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 3, p. 413-419, 2011

HERZIG, R., NEHNEVAJOVA, E., PFISTNER, C., SCHWITZGUEBEL, P., RICCI, A., & **International Journal of Phytoremediation**, v. 16, n. 7-8, p. 735-754, 2014. LUOMA, S.N.; BRYAN, G.W. 1981. A statistical assessment of the form of trace metals in oxidized estuarine sediments employing chemical extractants. **Science of the Total Environment**, v. 17, ed. 2, p.165-196, 1981.

LIMA, C. V. S. MEURER, E. J.; SCHMIDT, R. O.; SOUZA, E. D. Potencial de fitoextração do nabo forrageiro e da aveia preta em argilossolo contaminado por cádmio. **Revista de Estudos Ambientais**, v. 12, n. 1 p. 139-149, 2008.

LIMA, V. F.; MERÇON, F. Metais pesados no ensino de química. **Química nova na escola**, v. 33, n. 4, p. 199-205, 2011.

MARTINEZ, M. S.; CRUVINEL, D. F. C.; BARATTO, D. M. Avaliação da Fitorremediação de solos contaminados com metais pelo capim braquiária e mostarda da Índia. **Revista DAE**, n. 191, p. 30-37, 2013.

MONQUERO, P. A.; CÔRREA, M. C.; BARBOSA, L. N.; GUTIERREZ, A., ORZARI, I.; HIRATA, A. C. S. Seleção de espécies de adubos verdes visando à fitorremediação de Diclosulam. **Planta Daninha**, v. 31, n.1, p. 127-135, 2013.

NADGÓRSKA-SOCHA, A.; KANDZIORA-CIUPA, M.; CIEPAŁ, R. (2015). Element accumulation, distribution, and phytoremediation potential in selected metallophytes growing in a contaminated area. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 441, p. 1-15, 2015.

OLIVEIRA, J. D. **Espécies metálicas no Ribeirão Lavapés, Botucatu-SP: estudos envolvendo a distribuição de Cu, Zn, Pb, Ni, Fe, Mn e Cr em amostras de água e sedimentos**. 2006. 166 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2006.

OLIVEIRA, J. D. **Espécies metálicas no Ribeirão Lavapés, Botucatu-SP: estudos envolvendo a distribuição de Cu, Zn, Pb, Ni, Fe, Mn e Cr em amostras de água e**

sedimentos. 2006. 166 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2011.

SANTOS, F. S.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; NASCIMENTO, V. S.; HOFFMANN, R.; MAZUR, N. Fitorremediação por *Brachiaria humidicola* de área de disposição de um resíduo perigoso. **Floresta e Ambiente**, V.12, n.1, p. 22 - 29, 2005.

SCHNEIDER, J., LABORY, C. R. G., RANGEL, W. M., ALVES, E., GUILHERME, L. R. G. Anatomy and ultrastructure alterations of *Leucaena leucocephala* (Lam.) inoculated with mycorrhizal fungi in response arsenic-contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. **15**, p. **1245-1258**, 2013a.

SCHNEIDER, J.; OLIVEIRA, L. M.; STÜRMER, S. L.; SOARES, C. R. F. S.; GUILHERME, L. R. G. Espécies tropicais de Pteridófitas em associação com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com arsênio. **Química Nova**, v.35, n. 4, p.709-714, 2012.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research*, **Cambridge**, v. 105, p. 1413-1421, 2001. sedimentos do rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira-PETAR, São Paulo.

SILVA, D. D. E.; FELIZMINO, F. T. A.; OLIEVIRA, M. G. Avaliação da degradação ambiental a partir da prática da cultura do feijão no município de Tavares-PB. **HOLOS**. Ano 31, v. 8, p. 148-164, 2015.

SOUZA, L. A.; ANDRADE, S. A. L.; SOUZA, S. C. R.; SCHIAVINATO, A. Tolerância e potencial fitorremediador de *Stizolobium aterrimum* associada ao fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* em solo contaminado por chumbo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.35, p. 1441-1451, 2011.

SOUZA, L. A.; ANDRADE, S. A. L.; SOUZA, S. C. R.; SCHIAVINATO, A. Tolerância e potencial fitorremediador de *Stizolobium aterrimum* associada ao fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* em solo contaminado por chumbo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.35, p. 1441-1451, 2011. Sunflower: Results of Five and One-Year Field-Scale Experiments in Switzerland.

TOLENTINO, T. et al. Especificação do cádmio em *Brachiaria brizantha* e biodisponibilidade dos macro e micronutrientes. **Revista de Ciências Agrárias, Lisboa**, v. 37, n. 3, p. 292-298, set. 2014.

VASCONCELOS, M. C.; PAGLIUSO, D., SOTOMAIOR, V. S.- Fitorremediação: Uma proposta de descontaminação do solo - *Estud. Biol.*, **Ambiente Divers**. 2012 jul./dez.

WENZEL, W.; Rhizosphere Processes and Management in Plant-Assisted Bioremediation (Phytoremediation) of Soils Plant and Soil. **Journ, Plant and Soil**, 2009.

ZALEWSKA, M. (2012). Response of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) to soil contamination with zinc. **Journal of Elementology**. v. 17, p. 329-343. Doi: 10.5601/jelem.2012.17.2.14

ZALEWSKA, M., & NOGALSKA, A. (2014). Phytoextraction potential of sunflower and white mustard plants in zinc-contaminated soil. **Chilean Journal of Agricultural Research**.v. 74, n.4, p. 485-489. Doi: 10.4067/S0718-58392014000400016

AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS E METAIS POTENCIALMENTE TÓXICOS DOS SOLOS

CAPÍTULO 2

1 INTRODUÇÃO

De uma maneira geral, o solo é um recurso básico que suporta toda a cobertura vegetal da terra, imprescindível para a existência dos seres vivos. Sobre a superfície do solo, incluem-se não só as culturas como, também, todos os tipos de árvores, gramíneas, raízes e herbáceas que podem ser utilizadas pelo homem (BERTONI et al.,1990).

A Embrapa (2006), define solo como sendo uma coleção de corpos naturais, constituídos por partes sólidas, líquidas e gasosas, tridimensionais, dinâmicos, formados por materiais minerais e orgânicos que ocupam a maior parte do manto superficial das extensões continentais, contém matéria viva e podem ser vegetados na natureza onde ocorrem e, eventualmente, terem sido modificados por interferências antrópicas. Um ambiente natural, com associações tridimensionais usado para diversas finalidades, sendo a mais importante a produção de alimentos e fibras para o gênero humano e animais domésticos (BRADY, 1989).

As características físico-químicas do solo segundo Coelho et al. (2013), podem determinar os diferentes tipos de vegetação ou de plantas que nele se desenvolvem, sua produtividade e, de maneira indireta, determina o número de tipos de animais (incluindo pessoas) que podem ser sustentados por essa vegetação. Seus atributos biológicos podem ser bastante reconhecidos nos estudos de áreas degradadas e em recuperação. Entretanto, são escassos os estudos sobre estas variáveis em áreas degradadas visando fornecer subsídios para prevenção do processo de degradação.

As variáveis químicas dos solos são afetadas com a remoção da vegetação natural e o cultivo, principalmente na camada arável, em virtude da adição de corretivos e fertilizantes e de operações agrícolas. As principais modificações químicas nos solos cultivados em relação às condições originais decorreram da variação do pH e dos teores de cátions, os quais são dependentes da fertilidade inicial, ou seja, solos estróficos diminuem a fertilidade e os álicos aumentam, além da redução do alumínio trocável e da saturação por alumínio (MAIA; RIBEIRO, 2004).

A acumulação de metais potencialmente tóxicos nos solos e águas representa um risco para a saúde ambiental e humana. Estes elementos acumulam-se nos tecidos corporais dos organismos vivos e suas concentrações aumentam à medida que passam pelos níveis tróficos, causando bioacumulação. No solo, os metais potencialmente tóxicos causam efeitos toxicológicos na microbiota do solo, o que pode levar a uma diminuição de atividades (FAROOQ et al., 2010).

Os metais potencialmente tóxicos (MPT) tais como Zn, Mn, Ni, Cd e Cu podem ter a sua quantidade aumentada nos solos devidos a ações antropogênicas, tais como adubações sucessivas, principalmente dos fertilizantes fosfatados, devido à ocorrência destes nas rochas fosfatadas, como a apatita, empregada como matéria prima para classe de fertilizantes (LIMA, 2011; ESTRELA; GAROFALO CHAVES; SILVA, 2018) a produtos como lodo de esgoto, composto de lixo urbano e resíduos de indústria de mineração (CARVALHO; ORSINE, 2011), bem como a utilização de água de irrigação poluída e/ou contaminada.

Objetivou-se com este trabalho avaliar as concentrações de Metais Potencialmente Tóxicos e alterações das variáveis físico-químicas de solos da cidade de Imperatriz-MA contaminados artificialmente com Zinco (II), Manganês (II) e Cobre (II) antes e depois do plantio do experimento em casa de vegetação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Nesta pesquisa foram empregadas amostras de solos provenientes do banco de amostras oriunda de uma área preservada no município de Imperatriz-MA. O experimento foi conduzido em casa de vegetação e a parte laboratorial nos Laboratórios de Microbiologia e Saúde e no Laboratório de Química Ambiental da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL), campus Imperatriz.

2.1 Preparação do Solo

O solo foi autoclavado por uma hora, por dois dias consecutivos, visando a não interferência de qualquer outro microrganismo do solo, que não dos fungos micorrízicos a serem inoculados. Em seguida foi contaminado com adição dos metais: Zinco (II), Manganês (II) e Cobre (II). Antes da contaminação, o mesmo foi analisado para determinação das quantidades dos metais já presentes.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 5x2, sendo 5 doses das espécies metálicas na forma de sais P.A. (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹) e 2 inoculações de FMA (sem e com FMA), totalizando 10 tratamentos com 4 repetições, resultando em 40 unidades experimentais (Tabela 1).

Tabela 1. Tratamentos utilizados no experimento conduzido em casa de vegetação, utilizando fungo micorrízicos arbusculares (FMA).

TRATAMENTOS	APLICAÇÃO DO FMA	DOSES DOS METAIS (mg kg⁻¹ de solo)
s/FMA+0dose	sem FMA	0
s/FMA+10dose	sem FMA	10
s/FMA+20dose	sem FMA	20
s/FMA+40dose	sem FMA	40
s/FMA+80dose	sem FMA	80
c/FMA+0dose	com FMA	0
c/FMA+10dose	com FMA	10
c/FMA+20dose	com FMA	20
c/FMA+40dose	com FMA	40
c/FMA+80dose	com FMA	80

Após a coleta, as amostras dos solos foram secas ao ar, e passadas em peneira de 2 mm homogêneas foram submetidas à análise de pH em água e KCl 1 mol L⁻¹. e determinação da percentagem de matéria orgânica foi feita por calcinação a 550° C, também foram realizadas determinações de matéria orgânica por titulação para que houvesse comparação de eficiência entre os dois métodos.

2.2 Determinação de pH em H₂O e KCl

As amostras dos solos secas ao ar, descompactadas e passadas em peneira de 0,35 mm homogêneas foram submetidas à análise de pH em água e KCl 1 mol L⁻¹. Foram determinados potenciométricamente em suspensão, empregando 10,0 gramas de solo em cada amostra, e acrescentou-se 25 mL de água e solo agitando-se por 40 min. Após agitação a suspensão foi deixada em repouso por 1 h. Para o pH em KCl 1 mol L⁻¹ foi mantida a mesma relação solos e água utilizada na determinação do pH em água e o mesmo tempo de

agitação/repouso. Em seguida foram feitas as medições do pH nas amostras segundo Raij et al., (2001). As análises foram feitas em triplicata.

2.3 Estimativa das cargas do solo (ΔpH)

A estimativa das cargas do solo foi feita a partir dos valores de pH em água e KCl 0,1 mol L⁻¹ (MEKARAU; UEHARA, 1972) partir da equação 2.

$$\Delta\text{pH} = \text{pH}_{\text{KCl}} - \text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} \text{ (Equação 2)}$$

2.4 Determinação da Capacidade de Troca Catiônica – CTC

Para a determinação dos cátions totais trocáveis, CTC, foram pesados 2,5 g das amostras de solo, adicionando-se 25 mL da solução de ácido acético 1,00 mol L⁻¹. Em seguida a suspensão foi agitada por 1 h em incubadora com agitação orbital shake, sendo posteriormente determinado o pH tanto da solução de ácido acético quanto da suspensão contendo a amostra conforme o método utilizado por Cotta et al. (2006). As determinações foram feitas em três repetições. A quantificação da CTC das amostras foi de acordo com a equação 3:

$$\text{CTC}_{(\text{mmol} \cdot \text{kg}^{-1})} = [\text{pH}_1 - \text{pH}_2] \times K_{\text{ctc}} \text{ (Equação 3)}$$

Onde:

pH₁ = pH da suspensão contendo a amostra;

pH₂ = pH da solução de ácido acético;

K_{ctc} = Soma das cargas dos cátions presentes na CTC do solo.

2.5 Determinação de metais biodisponíveis no solo antes do plantio

O método utilizado neste trabalho para a determinação da concentração de Metais Potencialmente Tóxicos - MPT na fração biodisponível dos solos é aquele proposto por De Paula e Mozeto (2001). Foi transferido aproximadamente 1 g dos solos secos para um erlenmeyer, foram adicionados 25 mL de HCl 0,1 mol L⁻¹ e submeteu-se a mistura à agitação, por 2 horas em uma mesa com agitação orbital shaker. Completado o tempo de extração, a suspensão foi mantida em repouso por um período necessário para decantação do material sólido, sendo, em seguida, filtrada em papel de filtro quantitativo. A solução após filtrada foi recolhida em frasco de polietileno e mantido sob refrigeração até a determinação dos metais.

Durante os processos de extração, foi realizado um controle branco das soluções extratoras para cada conjunto de amostra analisada no mesmo dia. As análises foram feitas em triplicata.

2.6 Análise de Dados

Os dados foram submetidos a análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas utilizando-se teste de Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico R.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes aos parâmetros físico-químicos pH em água, pH em KCl e Capacidade de Troca Catiônica, CTC, dos solos analisados antes do plantio encontram-se na Tabela 2, assim como o ΔpH ($\text{pH}_{\text{KCl}} - \text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$) e a porcentagem de matéria orgânica no solo (M.O). O potencial hidrogeniônico dos solos analisados antes do plantio em todas as concentrações de dopado e não dopado, manteve-se na mesma faixa, sendo um solo considerado com acidez fraca segundo classificação proposta por Cordeiro et al. (2018), variando entre 6,02 e 6,35 para o pH em água e 4,65 e 5,94 para o pH em KCl.

Verifica-se na Tabela 2 que os valores de $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ foram maiores que o pH_{KCl} todos os tratamentos, Ebeling e colaboradores (2008) comentam que esses resultados são atribuídos ao efeito da solução de KCl, que, em contato com a amostra de solos, induz a troca de cátions devido à maior concentração dos íons K^+ , liberando íons H^+ e Al^{3+} para a solução, com consequente aumento da acidez. Shinzato et al (2015) argumenta que esse comportamento é devido ao Cl^- deslocar menor quantidade de OH^- em relação ao H^+ deslocado pelo K^+ e afirmam que neste caso o solo é interpretado com eletronegativo, ou seja a sua CTC é maior que CTA (capacidade de troca aniônica).

Tabela 2. Valores médios de pH em água, pH em KCl, CTC e Matéria Orgânica.

Solos antes do plantio					
Dopagem	pH em Água	pH em KCl	ΔpH	CTC ($\text{mmol}_c.\text{kg}^{-1}$)	M.O %
0 mg.kg^{-1}	6,03 \pm 0,01	5,94 \pm 0,02	-0,09	1,02	9,06%
10 mg.kg^{-1}	6,09 \pm 0,051	4,65 \pm 0,1	-1,44	0,20	7,04%
20 mg.kg^{-1}	6,02 \pm 0,014	5,39 \pm 0,3	-0,63	0,60	7,80%
40 mg.kg^{-1}	6,35 \pm 0,006	5,54 \pm 0,07	-0,81	1,20	10,18%
80 mg.kg^{-1}	6,12 \pm 0,04	5,42 \pm 0,01	-0,7	1,08	9,82%

CTC = Capacidade de troca catiônica; M. O= Matéria Orgânica

O ΔpH ($\text{pH}_{\text{KCl}} - \text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$) relacionam-se com o balanço de carga elétricas no solo. Quando $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}} > \text{pH}_{\text{KCl}}$ predomina cargas negativas nesses casos os solos retêm mais cátions, quando $\text{pH}_{\text{KCl}} > \text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ predominam carga positiva e os solos retêm mais ânions que cátions, no entanto quando o $\text{pH}_{\text{KCl}} = \text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ o número de cargas negativas e positivas são iguais (ponto de carga zero, ou PCZ). A determinação do ΔpH nos certifica de que as cargas que prevalecem nos solos negativas pois $\Delta\text{pH} > 0 =$ cargas positivas e $\Delta\text{pH} < 0 =$ cargas negativas. Todos os valores de ΔpH foram menores que 0. Os valores negativos de ΔpH (Tabela 2) indicando que os solos investigados retêm cátions. Porém, em conformidade com a bibliografia, tem-se que o solo apresenta deficiência em sua capacidade de reter cátions na forma trocável por com o seu baixo valor de CTC, logo o solo irá reter cátions, porém não com tanta eficiência (EMBRAPA, 2011)

De acordo com a Tabela 2 a capacidade de troca catiônica variou com a aplicação da dose das espécies metálicas para o mesmo solo, entre $0,20 \text{ mmol}_c \cdot \text{kg}^{-1}$ na amostra dopada com 10 mg kg^{-1} e $1,02 \text{ mmol}_c \cdot \text{kg}^{-1}$ na dopada com 40 mg kg^{-1} . As argilas minerais, as substâncias húmicas e os óxidos de ferro e alumínio possuem determinada superfície de troca e são os principais coloides responsáveis pela capacidade de troca de cátions (CTC) dos solos sob condições tropicais. Em razão do maior número de cargas negativas do que positivas desses coloides, a adsorção é principalmente de cátions.

No entanto, há alguns sítios nestes coloides com cargas positivas que podem atrair ânions (principalmente nos óxidos de ferro e alumínio). Um valor baixo de CTC indica que o solo tem pequena capacidade para reter cátions em forma trocável (EMBRAPA, 2011).

Os teores de matéria orgânica (Tab.2) variaram entre 7,04 e 10,13 %. A matéria orgânica do solo (MOS) é resultado de produção, incorporação, decomposição e mineralização de materiais vegetais e animais. Em relação aos teores de matéria orgânica, segundo Alcântara e Pierangeli (2011), valores acima de 10 %, indicam predominância de compostos orgânicos, e abaixo de 10 %, de compostos inorgânicos ou minerais, com predominância de sílica, argila e compostos como, cálcio, ferro e manganês. Considerando a afirmação de Alcântara e Pierangeli o solo dopado com 40 mg kg^{-1} apresentou característica levemente orgânica. É importante ainda destacar a contribuição da matéria orgânica na geração de cargas do solo, expressa na capacidade de troca catiônica (CTC) como se verifica na Tabela 2.

Extrações parciais, com ácidos diluídos, são comumente utilizadas para obtenção da fração de metais lábeis, móveis ou fracamente associados à matriz do solo e, também considerada potencialmente biodisponíveis (BEVILACQUA et al., 2009) e, portanto, mais tóxicos. Extrações com ácido clorídrico a frio, por exemplo, têm um impacto limitado nas

frações mais fortemente ligadas aos metais e, conseqüentemente, são comumente utilizadas para identificar contaminação ecologicamente significativa (LUOMA e BRYAN, 1981).

A média relativa à triplicata das análises dos metais biodisponíveis assim como os valores do desvio padrão (D.P) encontram-se na Tabela 3. Na Figura 1. Estão representadas as concentrações dos metais biodisponíveis nos solos antes do plantio.

Tabela 3. Concentração dos metais Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} biodisponíveis no solo antes e após o plantio.

Dopagem	Cobre (II)		Manganês (II)		Zinco (II)	
	A.P	D.P	A.P	D.P	A.P	D.P
0 mg.kg	7,22	1,33	53,18	2,84	123,1	7,20
10 mg.kg	2,00	0,50	190,51	5,35	36,32	1,08
20 mg.kg	32,92	1,77	148,21	8,03	72,43	3,97
40 mg.kg	57,33	1,51	128,92	0,49	282,73	22,71
80 mg.kg	26,58	3,22	117,15	2,64	473,87	26,13

D.P = Depois do Plantio; mg/kg

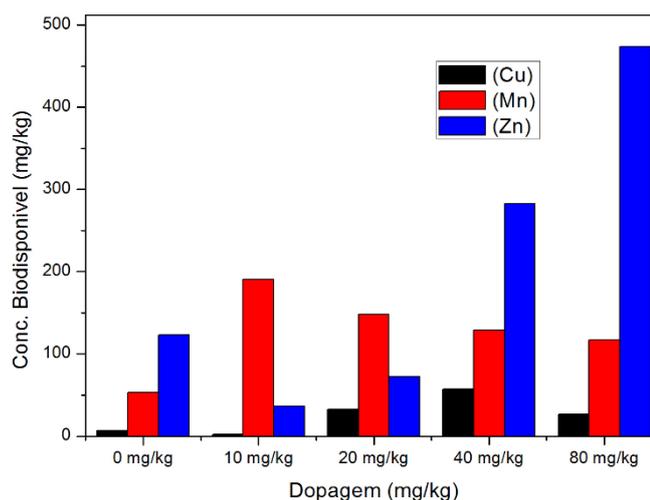


Figura 1. Biodisponibilidade dos metais Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} no solo contaminado antes do plantio.

Como demonstra a Tabela 3 e a Figura 1, o metal analisado com maior teor de biodisponibilidade no solo com dose 0(zero), foi o Zinco (II), seguido pelo Manganês (II). O Cobre (II) foi predominantemente o metal com menor teor de biodisponibilidade. No entanto, após a adição das doses dos metais potencialmente tóxicos o Mn (II) foi a espécie que apresentou maior concentração de metais biodisponíveis, exceto para as doses de 40 e 80 mg kg^{-1} , permitindo inferir uma saturação dos sítios de adsorção na superfície da fase sólida do solo investigado pelo manganês e/ou a capacidade do zinco deslocar o manganês adsorvido à superfície em dose acima de 20 mg kg^{-1}

É importante ainda destacar, que o manganês apresentou um comportamento padrão a concentração diminui com o aumento da dose desse metal no solo, já a concentração

biodisponível do zinco aumentou com o aumento das doses zinco. Os teores biodisponíveis do cobre por outro lado, não apresentaram comportamento definido, aumentou e diminuiu com as adições das doses aplicadas.

A maior concentração de Zinco na dosagem 0 pode ser explicada pelos valores do pH de 6,03 que favorece a adsorção desse metal na superfície das partículas coloidais dos solos (ALEXANDRE et al., 2012), influenciando a mobilidade do Zn nos solos, Mukhopaddhyay et al (2018), comenta que em pH acima de 6 a sua mobilidade é significativamente reduzida.

Nas Figuras 2 e 3 apresentam as concentrações das espécies metálicas Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} no material lixiviado do solo sem fungos micorrízicos arbusculares e com fungos micorrízicos arbusculares respectivamente.

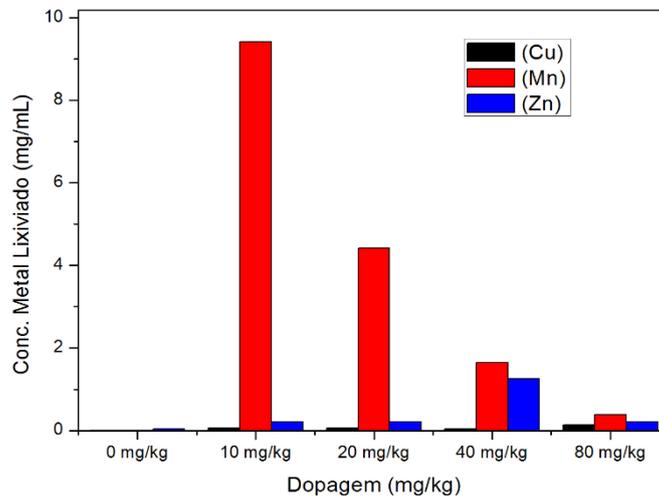


Figura 2. Concentração de Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} no lixiviado dos solos analisado sem o F.M.A.

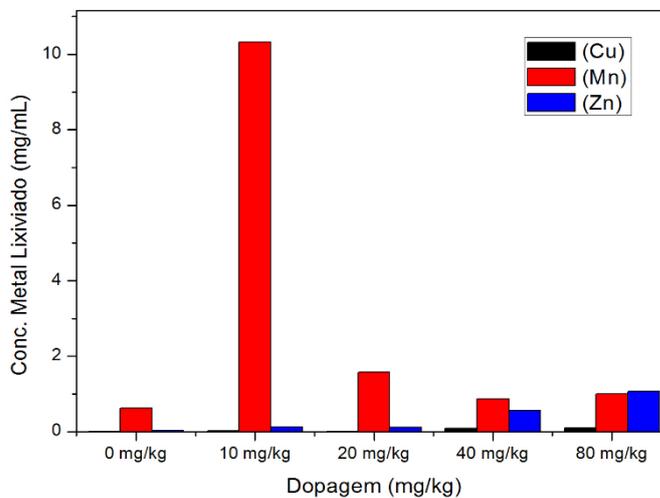


Figura 3. Concentração de Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} no lixiviado dos solos analisado com o F.M.A.

A lixiviação é o processo de remoção de substâncias solúveis, através da água que drena o solo (EMPRAPA, 2011). O comportamento dos metais no efluente do lixiviado foi aproximadamente o mesmo no que se refere aos dois tipos de tratamento, com e sem F.M.A., com maior concentração de Mn^{2+} da menor para a maior concentração em ambos, assim como menor concentração de Cu^{2+} também em ambos. A maior concentração de metal deu-se na dopagem de 10 mg kg^{-1} , tanto para as amostras de solo sem fungo quanto para com fungo, onde o Manganês (II) foi o metal com mais representatividade no lixiviado e o Cobre (II) o que menos lixiviou. Tendo sido, no geral, o segundo tratamento (com fungo) que apresentou valores mais baixos de metais no lixiviado.

4 CONCLUSÃO

De um modo geral a aplicação de doses de Cu^{2+} , Mn^{2+} e Zn^{2+} nos solos aumentaram os teores de biodisponibilidade dessas espécies metálicas nos solos e conseqüentemente para a cultivar *Urochloa brizantha*. Analisando os valores de pH verificou-se que a quantidade de H^+ do solo não contribui para a biodisponibilidade das espécies metálicas no solo, trata-se de um solo com acidez fraca, o que tem reflexo direto com a CTC do solo que por sua vez também tem valores significativos que adjetivam o solo como bom para o cultivo assim como propício à retenção de cátions. A baixa concentração dos metais no lixiviado indica que o solo os complexou e/ou adsorveu as espécies metálicas em sua forma biodisponíveis investigada possibilitando assim a biodisponibilidade destes para a *Urochloa Brizantha*.

REFERÊNCIAS

ALEXANDRE, J. R., OLIVEIRA, M. L.F., SANTOS, T. C., CANTON, G. C., CONCEIÇÃO, J. M., Eutrópio, F. J., Cruz, Z. M.A., Doddss, L.B., Ramos, A.C. Zinco e ferro: de micronutrientes a contaminantes do solo. *Natureza on line*, v.10, n.1, p. 23-28, 2012.

ALMEIDA, A. M. M.; SILVA JÚNIOR, J. M. T. Tolerância de *Mimosa caesalpiniaefolia* ANDRADE, F. M.; AMARAL SOBRILHO, N. M. B.; SANTOIA, F. S.; MAGALHÃES, M. O. L.; TOLO-BECERRA, A.; LIMA, L. S. Uso de EDTA na fitoextração induzida de chumbo Benth. associada a micorrizas arbusculares em substrato da mineração de manganês. *Revista biorremediação dos metais pesados no solo*. *Natureza on line*, v.8, n.1 p. 24-31, 2010. *Brasil. Química Nova*, v. 29, n, 1, p. 40-45, 2006.

BERTONI, J.; NETO, F. L. Conservação do solo. São Paulo: ICONE, p.28, 1990. CAMARGO, O. D., MONIZ, A. C., JORGE, J. A.; VALADARES, J. M. A. S. Métodos de análise química,

mineralógica e física de solos do Instituto Agrônomo de Campinas. Campinas: Instituto Agrônomo de Campinas, Boletim técnico, 106. p.94, 1986.

BRADY, N. C. Natureza e propriedades dos solos "The nature and properties of soils". 7.ed. Tradução Antonio B. Neiva Figueiredo. Rio de Janeiro: Freitas Bastos, 1989. 890 p.

CARVALHO, J. .; ORSINE, J. . CONTAMINAÇÃO DO MEIO AMBIENTE POR FONTES DIVERSAS E OS AGRAVOS À SAÚDE DA POPULAÇÃO. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, [S. l.], v. 7, n. 13, 2011. Disponível em: <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/4197>. Acesso em: 25 out. 2021.

COELHO M. R.; FIDALGO, E. C., DOS SANTOS, H. G.; BREFIN, M. D. L. M. S. Solos: Tipos, suas funções no ambiente, como se formam e sua relação com o crescimento das plantas. In: O Ecossistema Solo Ed.: MOREIRA F. M. S.; et al.; Lavras: Ed. UFLA, p.49, 2013

CORDEIRO, C. T.; NUNES, R. M.; LANDA, G. G. Diagnóstico da área do antigo lixão do município de Nanuque, Minas Gerais, Brasil. Acta Biologica Brasiliensia, v.1, n.1, p.32-50, 2018.

DE PAULA, F. C. F.; MOZETO, A. A. Biogeochemical evolution of trace elements in a pristine watershed in the Brazilian southeastern coastal region. Applied Geochemistry, v. 16, n. 1, p. 1139-1151, 2001.

EBELING, A. G.; DOS ANJOS, L. H. C.; PEREZ, D. V.; PEREIRA, M. G.; VALLADARES, G. S. Relação entre acidez e outros atributos químicos em solos com teores elevados de matéria orgânica. Bragantia, v.67, n.2, p.429-439, 2008.

EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 2ª ed. Brasília: Embrapa Produção de Informação, Rio de Janeiro, Embrapa Solos, 312 p. 2006.

FAROOQ, U.; KOZINSKI, J. A.; KHAN, M. A.; ATHAR, M. Biossorção de íons de metais pesados usando biossorventes à base de trigo - uma revisão da literatura recente. Tecnologia Bioresource, v. 101, n. 14, p. 5043-5053, 2010.

LUOMA, S.N.; BRYAN, G.W. 1981. A statistical assessment of the form of trace metals in oxidized estuarine sediments employing chemical extractants. Science of the Total Environment, v. 17, ed. 2, p.165-196, 1981.

MAIA, J. L. T.; RIBEIRO, M. R. Cultivo contínuo da canade-açúcar e modificações químicas de um Argissolo Amarelo fragipânico. Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.39, n.11, p.1127-1132, 2004.

MEKARU, T.; UEHARA, G. Anion adsorption in ferruginous tropical soils. Soil Science Society of America Proceedings. Madison, v.36, p.296-300, 1972.

SHINZATO, M. C.; ANDRADE, V. S.; MARTINS, J. V.; SANTOS, M. M. A.; RIBEIRO, V. T.; CARVALHO, F. M. S. Efeito de lama vermelha nas propriedades eletroquímicas e de adsorção de um latossolo vermelho. **Revista do Instituto Geológico**, v. 36, n. 1, p. 51-65, 2015

AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E TOLERÂNCIA DA *Urochiloa brizanta*, ASSOCIADA A MICORRIZAS ARBUSCULARES EM SOLOS CONTAMINADOS COM ZINCO, MANGANÊS E COBRE

CAPÍTULO 3

1 INTRODUÇÃO

Os metais potencialmente tóxicos (MPT) tais como Zn, Mn, Ni, Cd e Cu podem ter a sua quantidade aumentada nos solos devidos a ações antropogênicas, tais como adubações sucessivas, principalmente dos fertilizantes fosfatados, devido à ocorrência destes nas rochas fosfatadas, como a apatita, empregada como matéria prima para classe de fertilizantes (LIMA, 2011; ESTRELA; GAROFALO CHAVES; SILVA, 2018) a produtos como lodo de esgoto, composto de lixo urbano e resíduos de indústria de mineração (CARVALHO; ORSINE, 2011), bem como a utilização de água de irrigação poluída e/ou contaminada).

Estas espécies metálicas encontradas em pequenas concentrações têm implicações significativas na fisiologia das plantas, controle de ativação enzimática e fixação de nitrogênio, no entanto, em concentrações tóxicas prejudicam as plantas e os organismos vivos, afetando seus órgãos, alterando processos bioquímicos, organelas e membranas celulares, além de originar problemas de saúde pública (OLIVEIRA; OLIVEIRA 2011, RODRIGUES et al.; 2018).

A principal causa deste problema está relacionada ao fato de os metais potencialmente tóxicos serem altamente reativos e bioacumuláveis, ou seja, os organismos são incapazes de eliminá-los quimicamente (OLIVEIRA e OLIVEIRA 2011), ficando retidos no ecossistema. Todavia, mesmo em pequenas quantidades, alguns desses metais podem ser prejudiciais aos organismos, por formarem complexos estáveis com as biomoléculas (BISINOTI; YABE; GIMENEZ, 2004).

Uma planta fitoextratora ideal deve ter como principais características a tolerância à alta concentração do poluente presente no solo, rápido crescimento, baixa exigência de água, eficiência na remoção do poluente, não ser invasiva e apresentar certa resistência a pragas e doenças, bem como, possuir baixa exigência de insumos e ser de fácil colheita (HERZIG et al., 2014). A eficiência da fitoextração pode ser aprimorada ao utilizar cultivares selecionadas e

geneticamente melhoradas, aliada a boas técnicas de cultivo (NEHNEVAJOVA et al., 2009; VANGRONSVELD et al., 2009; HERZIG et al., 2014).

As espécies de gramíneas pertencem ao gênero *Urochloa*, podem ser utilizadas para fitorremediação de solos contaminados com metais potencialmente tóxicos, sendo capazes de remover grandes quantidades de cádmio, zinco, níquel, cromo e chumbo (SANTOS et al., 2005; MARTINEZ; CRUVINEL; BARRATO, 2012), arsênio (ANTUNES ARAÚJO et al., 2011), o capim braquiária mostra-se eficiente não apenas na fitorremediação de solos com contaminação correspondente ao grau de intervenção como apresenta um potencial de tolerância de altas concentrações de metais no solo.

A tolerância de plantas e microrganismos aos metais potencialmente tóxicos tem sido estudada do ponto de vista de remoção do excesso do metal do solo ou diminuição da disponibilidade destes nos sistemas biológicos, sendo considerável o interesse biotecnológico (BERTOLAZI et al., 2010; SCHNEIDER et al., 2012^a; GARCIAS et al., 2017; CANTONI et al., 2018).

Segundo Cornejo et al (2008), os FMAs liberam substâncias orgânicas, como a glomalina, que pode ser um mecanismo altamente eficiente, pois a mesma realiza o sequestro de metais potencialmente tóxicos, promovendo melhoras nas condições ambientais, podendo levar a estabilização de solos que estão com altos teores destes elementos. Ainda os FMAs podem armazenar Cu, por exemplo, em compartimentos celulares, tais como, esporos e vesículas, onde a taxa metabólica é reduzida, trazendo benefícios ao crescimento das plantas e aos FMAs (FERROL et al., 2009; CORNEJO et al., 2013).

Desta forma, o presente trabalho objetivou avaliar a tolerância e desta forma o potencial fitorremediador da gramínea *Urochloa Brizantha* associada a fungos micorrizos arbusculares cultivadas em solos contaminados artificialmente por Zn^{2+} , Mn^{2+} e Cu^{2+} .

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ÁREA DE ESTUDO E COLETA DE DADOS

2.1.1 Banco de Amostras e local do Experimento

Nesta pesquisa foram empregadas amostras de solos provenientes do banco de amostras oriunda de uma área preservada no município de Imperatriz-MA, do Projeto **Avaliação de plantas nativas do Cerrado maranhense com potencial fitorremediador de solos contaminados por manganês, níquel, zinco, cromo e chumbo**, desenvolvido pelo

Grupo de Pesquisa em Química Ambiental(GPQA) do “Laboratório de Química Ambiental (LQA) do Centro de Ciências Exatas, Naturais e Tecnológicas (CCENT) da UEMASUL, financiado pelo Projeto UNIVERSAL FAPEMA- 01382/18, Edital- Nº 002/2018.

O experimento foi conduzido em casa de vegetação e a parte laboratorial nos Laboratórios de Microbiologia e Saúde e no Laboratório de Química Ambiental da Universidade Estadual da Região Tocantina do Maranhão (UEMASUL), campus Imperatriz.

2.1.2 Preparação do Solo

O solo foi autoclavado por uma hora, por dois dias consecutivos, visando a não interferência de qualquer outro microrganismo do solo, que não dos fungos micorrízicos a serem inoculados. Em seguida foi contaminado com adição dos metais: Zinco (II), Manganês (II) e Cobre (II). Antes da contaminação, o mesmo foi analisado para determinação das quantidades dos metais já presentes.

2.1.3 Aquisição das sementes

As sementes de brachiaria utilizadas no experimento foram adquiridas comercialmente na cidade de Imperatriz-MA (Figura 5). Foram plantadas 10 sementes por vaso e após 10 dias o desbaste foi feito deixando apenas 5 plantas por vaso (Figura 4). Em seguida foi realizada a inoculação dos FMA nos tratamentos com fungos micorrízicos. Os vasos foram irrigados com 150 mL de água destilada a cada 2 dias com a finalidade de manter a capacidade de campo.



Figura 4. Semente de *Urochloa Brizantha*
Fonte: Autor 2019



Figura 5 Vista do Plantio após o desbaste.
Fonte: Autor 2019

2.1.4 Instalação do experimento

Os vasos utilizados foram confeccionados com garrafas de politereftalato de polietileno (PET) de 2 L. Foram necessárias duas garrafas para cada vaso confeccionado. A parte superior das garrafas foram cortadas acima do meio, as tampas que lhes acompanhavam foram perfuradas e acopladas, gaze estéril e algodão foram colocados na parte inferior das garrafas para impedir a perda do solo através dos furos das tampas, sendo possível assim a coleta dos lixiviados (Figura 6). Para a coleta do líquido lixiviado foi formado uma base com as garrafas onde as mesmas foram cortadas ao meio e cobertas com fita adesiva preta para evitar a interferência da luminosidade.



Figura 4. “A” Vasos confeccionados para a instalação do experimento; “B” Vasos preenchidos e experimento instalado. Fonte: Autor, 2019

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado (DIC) em fatorial 5x2, sendo 5 doses das espécies metálicas na forma de sais P.A. (0, 10, 20, 40 e 80 mg kg⁻¹) e 2 inoculações de FMA (sem e com FMA), totalizando 10 tratamentos com 4 repetições, resultando em 40 unidades experimentais (Tabela 4).

Tabela 4. Tratamentos utilizados no teste de fitorremediação utilizando fungo micorrízicos arbusculares (FMA) e doses dos sais de Zinco (II), Manganês (II) e Cobre (II).

TRATAMENTOS	APLICAÇÃO DO FMA	DOSES DOS METAIS (mg kg ⁻¹ de solo)
s/FMA+0dose	sem FMA	0
s/FMA+10dose	sem FMA	10
s/FMA+20dose	sem FMA	20
s/FMA+40dose	sem FMA	40
s/FMA+80dose	sem FMA	80
c/FMA+0dose	com FMA	0
c/FMA+10dose	com FMA	10
c/FMA+20dose	com FMA	20
c/FMA+40dose	com FMA	40
c/FMA+80dose	com FMA	80

s/FMA = Sem fungo Micorrriza Arbuscular; c/FMA= Com Fungo Micorrriza Arbuscular.

Durante a condução do experimento, os vasos foram irrigados com água destilada, de modo a não ultrapassar o limite máximo de 70 % da capacidade de campo deste solo. Após 50 dias após a plantação (DAP) o experimento foi retirado do campo, as plantas foram segregadas em parte folhas, colmo e raiz, e foram armazenadas em sacos de papel e seca, (figura 7) após secagem foi determinada a matéria seca da parte aérea (MSPA) e matéria seca da raiz (MSR). Em seguida o material seco foi pesado e assim feito a determinação da

2.1.5 Extração dos esporos dos solos

O solo para extração dos esporos foi coletado em 2 áreas de mata nativa de Cerrado, na profundidade de 0-20 cm. Foram pesados 50 g de solo (Figura 8A), em um béquer de 1L, onde se acrescentou água e em seguida a amostra foi agitada e deixada descansar por 30 segundos (Figura 8B). Após decantar, o líquido foi vertido em um conjunto de peneiras de 710 e 53 µm (Figura 9A), o sobrenadante retido na peneira de 53 µm foi colocado em tubos falcon e levado para primeira centrifugação a uma velocidade de 3000 rpm por 5 minutos, para separação das partículas do solo (Figura 9B).



Figura 7. Experimento com 30 dias de Plantio. Fonte: Autor, 2019.

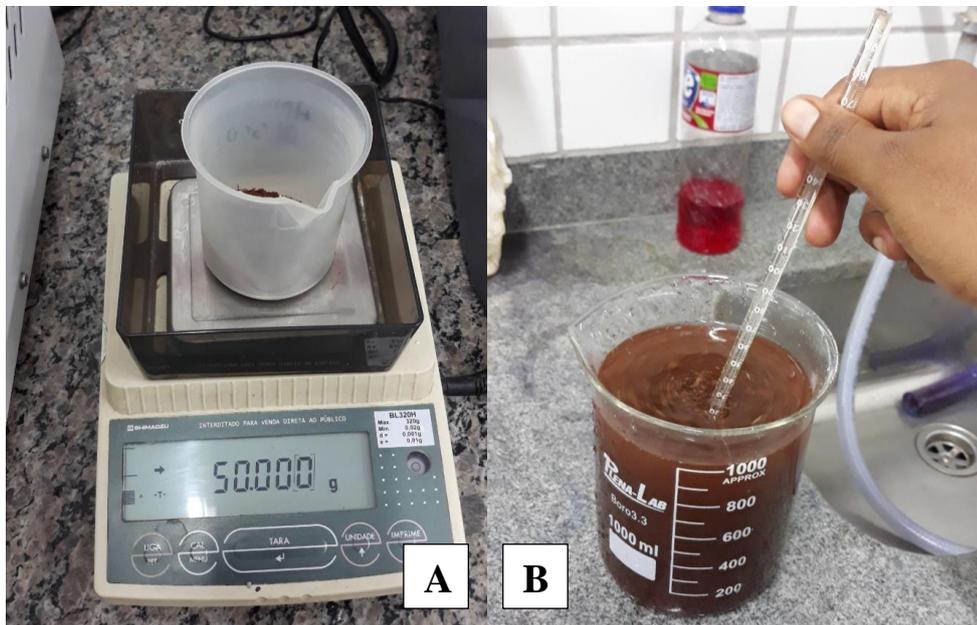


Figura 6. “A” Pesagem do solo para extração dos esporos; “B” Processo de agitação do solo para extração. Fonte: Autor, 2019



Figura 7. “A” Processo de peneiramento do líquido; “B” Processo de Centrifugação do solo contido na amostra. Fonte: Autor, 2019

Após a centrifugação, o líquido sobrenadante foi descartado e ao corpo de fundo acrescentado uma solução de sacarose 45% (JENKINS, 1964), em seguida os tubos foram levados novamente a para a centrífuga por 3 minutos a uma rotação de 3000 rpm. Finalizada esse processo o material foi vertido na peneira de 53 μm e lavado com água destilada para a retirada da sacarose e armazenados em tubos Falcon. (GEDEMANN e NICOLSON, 1963). Após a extração, os esporos foram inoculados ao solo conforme seus tratamentos (Figura 10).

Os solos para extração dos esporos foram coletados em 2 áreas de mata nativa de Cerrado, na profundidade de 0-20 cm. Foram pesados 50 g de solo, em um béquer de 1 L, onde se acrescentou água e em seguida a amostra foi agitada e deixada em repouso por 30 segundos para decantação do solo. Após a decantação, o líquido foi vertido em um conjunto de peneiras de 710 e 53 μm , o sobrenadante retido na peneira de 53 μm foi colocado em tubos falcon e levado para primeira centrifugação a uma velocidade de 3000 rpm por 5 minutos, para separação das partículas do solo.



Figura 8. Inoculação dos esporos ao solo. Fonte: Ana Paula 2020

2.1.6 Parâmetros de desenvolvimento da planta

Ao término do experimento foi medido a altura das plantas com auxílio de uma fita métrica graduada em centímetros (Figura 11A) e em seguida foram separadas parte aérea e raiz através de corte na base da planta com auxílio de estilete (Figura 11B). Posteriormente foi medido o comprimento da raiz (Figura 11C) também com uma fita métrica graduada em centímetros. O índice de clorofila foi mensurado um dia anterior à coleta, nas folhas mais velhas com auxílio do SPAD 502 Plus Medidor de Clorofila.

Para a determinação da massa fresca foram pesadas a parte aérea (Figuras 12A) e a raiz (Figuras 12B). Em seguida cada compartimento foi armazenado em sacos de papel e levados a estufa de circulação de ar a 60°C até obtenção de peso constante. Após a secagem o material foi pesado em balança analítica para obtenção da massa seca da parte aérea (Figura 13A) e massa seca da raiz (Figura 13B).

Antes das raízes serem levadas a estufa para secagem foi retirada uma subamostra de 0,5 g de cada planta, para análise de colonização, foram retiradas amostras de raízes mais

tenras e jovens, que foram limpas em água corrente e armazenadas em álcool sob refrigeração até coloração e contagem.



Figura 9. “A” Altura da planta com auxílio de uma fita métrica, “B” Comprimento da raiz e “C” Corte realizado na base da planta para Separação da parte aérea e raiz. Fonte: Autor, 2020.



Figura 10. Pesagem da Massa Fresca da Parte Aérea e Raiz. Fonte: Autor, 2020



Figura 11. Pesagem da massa seca da parte Aérea e Raiz. Fonte: Autor, 2020

2.1.7 Coloração e contagem de raízes colonizadas

A coloração das raízes foi executada através da metodologia descrita por Philips e Hayman (1970), onde as raízes foram colocadas em tubo de falcon de 15 ml e em seguida adicionada uma solução de KOH 10 % até que as raízes fossem totalmente cobertas e levadas ao banho maria a 90° C durante 60 minutos. Após o banho-maria, a amostra foi lavada em água corrente e em seguida em com solução de HCl 5 %. Para a coloração, as raízes foram imersas em solução de corante de triptan 0,05 % durante 24 h e em seguida retirada e armazenada em solução de glicerol 50 % para posterior contagem (Figura 14).

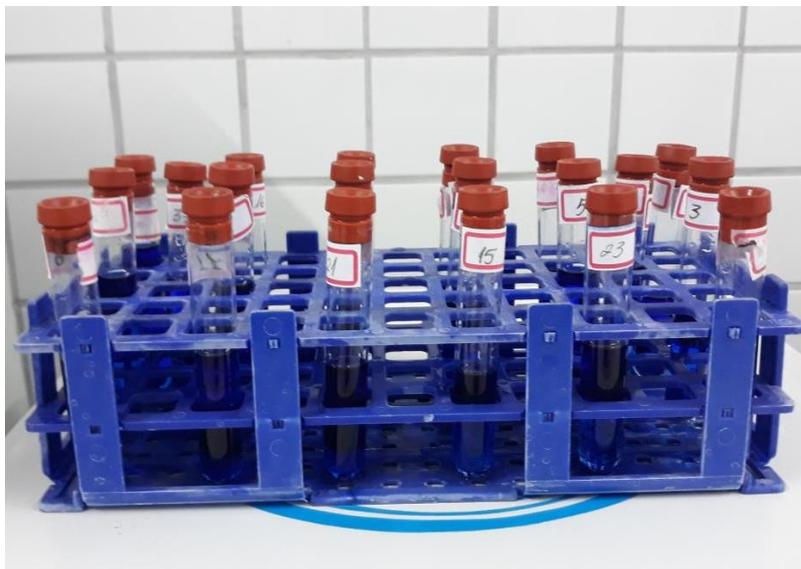


Figura 12. Raízes armazenadas em glicerol 50% (fonte: autor 2020)

As raízes foram colocadas placa de Petri de 8,5 cm de diâmetro contendo um grid de linhas de 1,27 cm (Figura 15) Giovannetti e Mosse (1980). Com auxílio de microscópio estereoscópio foram avaliados os fragmentos das raízes que continham estruturas fúngicas. Foi observada em cada campo visual, a intersecção da raiz com a linha horizontal do grid e contabilizada a presença e ausência de colonização micorrízica do segmento das raízes que ficaram em contato com a linha do grid (Figura 16). Para calcular a taxa de colonização radicular utilizou-se a fórmula 1.

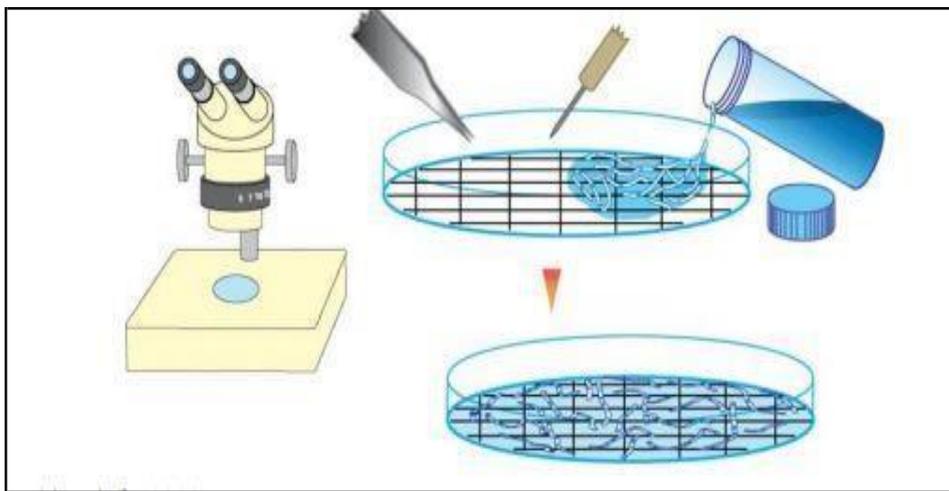


Figura 13. Colonização micorrízica em placa de petri pelo método de Giovanetti e Mosse (1980). Fonte: mycorrhizas.info, 2008

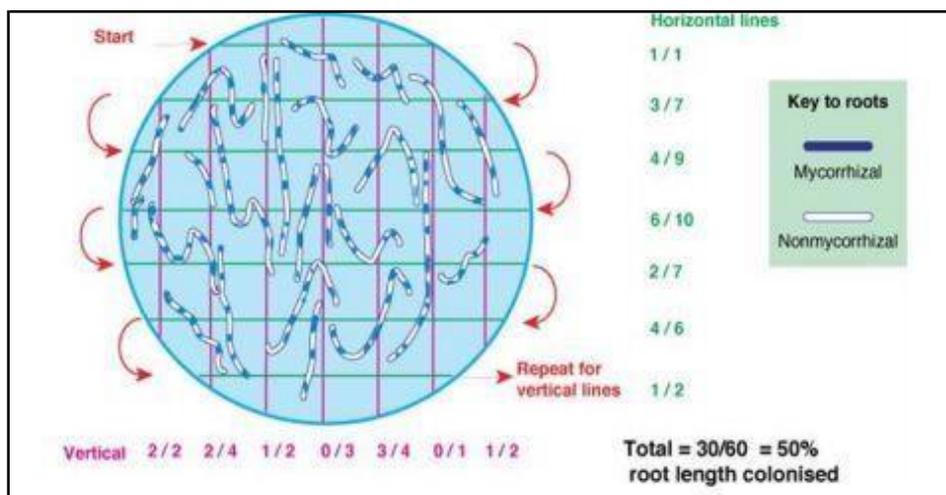


Figura 14. Exemplificação da contagem de esporos para obtenção da porcentagem de colonização micorrízica na raiz do sombreiro. Fonte: mycorrhizas.info, 2008

Formula 1:

$$\% \text{ de colonização micorrízica} = \text{SIM} / (\text{SIM} + \text{NÃO}) \times 100 \quad (1)$$

Onde:

-SIM: pontos das raízes colonizadas;

NÃO: ponto das raízes não colonizadas.

2.1 Análise de Dados

Os dados foram submetidos a análise de variância ANOVA e as médias foram comparadas utilizando-se teste de Tukey a 5% de probabilidade com auxílio do programa estatístico R.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na Tabela 5 estão representados os parâmetros com relação ao diâmetro, comprimento da raiz, índice de clorofila e colonização radicular.

Tabela 5. Tabela 5. Média dos parâmetros de altura da planta, comprimento da raiz e índice de clorofila analisados em função dos dez tratamentos estudados com *Urochloa brizantha*.

Tratamentos	Altura planta (cm)	Comprimento da raiz (cm)	Índice de Clorofila	Colonização Radicular (%)
s/FMA+0dose	57,44a	19,75a	31,9a	0 b
s/FMA+10dose	52,09a	18,25a	33,63a	0 b
s/FMA+20dose	60,06a	16,75a	33,07a	0 b
s/FMA+40dose	66,06a	21,25a	35,56a	0 b
s/FMA+80dose	56,19a	14,25a	34,68a	0 b
c/FMA+0dose	56,75a	24a	33,15a	5,59 a
c/FMA+10dose	50,13a	17a	34,77a	9,65 a
c/FMA+20dose	67,81a	19,5a	34,43a	6,37 a
c/FMA+40dose	64,4a	21,25a	33,08a	13,29 a
c/FMA+80dose	65,69a	17,5a	33,33a	9,12 a

*Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Na tabela 6 encontram-se os resultados para massa fresca e seca da parte aérea e massa fresca e seca da raiz.

Tabela 6. Média dos valores encontrados para massa fresca e seca da parte aérea e massa fresca e seca da raiz em função dos dez tratamentos estudados com *Urochiloa brizantha*.

TRATAMENTOS	MFPA	MSPA	MFR	MSR
s/FMA+0dose	32,12	6,00	6,44	0,92
s/FMA+10dose	23,79	5,47	4,96	0,89
s/FMA+20dose	34,21	7,05	3,57	0,62
s/FMA+40dose	48,18	9,25	8,74	1,48
s/FMA+80dose	38,95	8,07	6,58	0,86
c/FMA+0dose	30,57	7,16	4,20	0,86
c/FMA+10dose	21,86	4,12	3,74	0,73
c/FMA+20dose	41,88	8,81	4,51	1,07
c/FMA+40dose	49,67	9,67	5,35	0,84
c/FMA+80dose	42,96	8,50	6,75	1,06

MFPA= massa fresca da parte aérea. MSPA= massa seca da parte aérea. MFR= massa fresca da raiz. MSR= massa seca da raiz.

As figuras 17 e 18 dispõem o resultado para massa fresca da parte aérea (Figura 17) e massa seca da parte aérea (Figura 18) em função dos tratamentos aplicados.

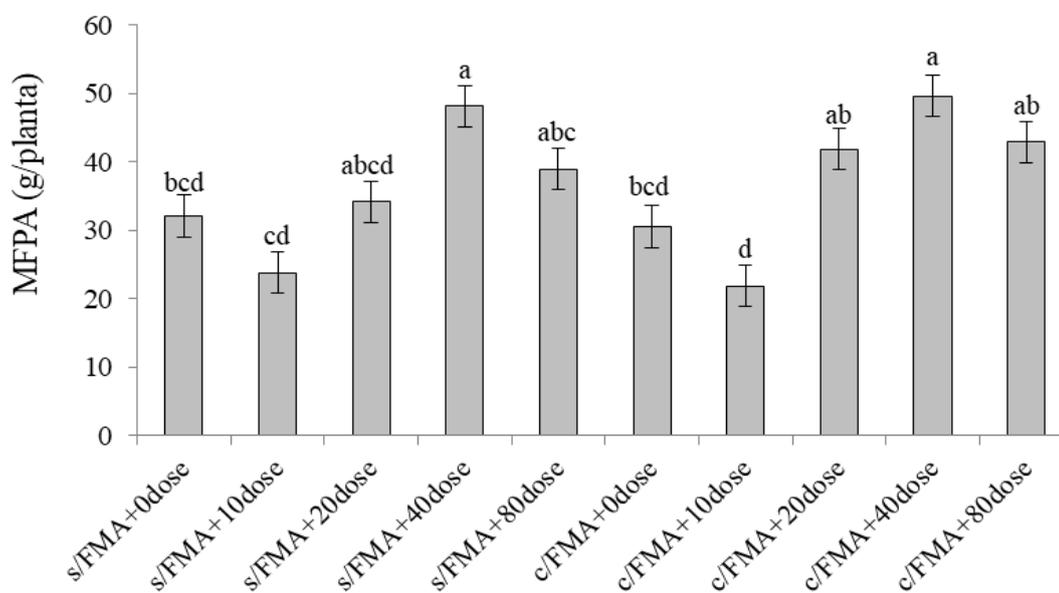


Figura 15. Massa fresca da parte aérea em função dos 10 tratamentos analisados.

*Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

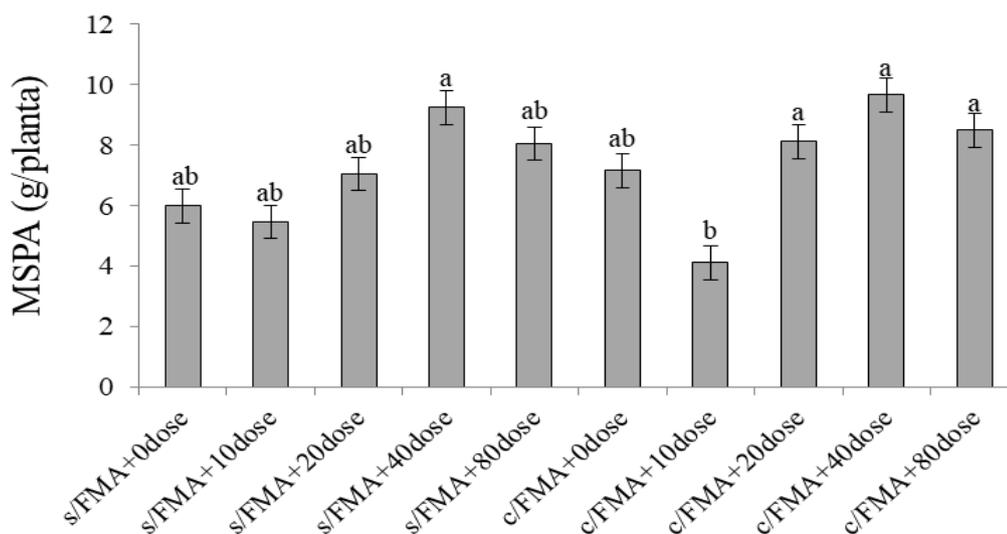


Figura 16. Massa seca da parte aérea em função dos tratamentos

*Médias seguidas de mesma letra, não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Diversos trabalhos vêm demonstrando a eficiência de adaptação das gramíneas em solos contaminados com diferentes metais potencialmente tóxicos (SILVA et al. 2006; MARTINEZ et al. 2012; ANDRADE et al. 2014). Devido tal característica associado ao seu rápido crescimento essas espécies são consideradas tolerantes e muito utilizadas como fitorremediadoras de solos contaminados (ARAÚJO et al. 2011).

A *Urochloa brizantha* apresentou um bom desenvolvimento em solo contaminado com as diferentes dosagens dos metais potencialmente tóxicos, isso comprovado pelas análises dos parâmetros altura de planta, comprimento da raiz, índice de clorofila (Tabela 4), massa fresca da raiz e massa seca da raiz (Tabela 5), estes não apresentaram diferença significativa entre os tratamentos analisados ($p > 0,05$), mostrando assim que as plantas cultivadas em solo contaminado com metal potencialmente tóxicos obteve o mesmo comportamento que as cultivadas em solo sem contaminação.

Quanto à colonização radicular o resultado obtido já era esperado visto que só pode ter presença de FMA nas plantas que foram inoculadas, uma vez que o solo foi autoclavado para impedir a não interferência de qualquer micro-organismo. Porém esse resultado foi positivo, pois mesmo sob contaminação de metais potencialmente tóxicos os FMA realizaram a esporulação colonizando assim as raízes.

O fato de o tratamento sem FMA+40 doses ter tido o mesmo resultado que os demais tratamentos citados demonstram que provavelmente os FMA não tiveram tanta influência no desenvolvimento da planta.

Carneiro et al (2001) em estudos com algumas espécies incluindo gramíneas analisaram que as mesmas também não obtiveram grande influência dos fungos micorrízicos na MSPA no primeiro corte, e um dos fatores que pode ter influenciado em tal resultado seja o tempo de contato entre FMA e planta, visto que no segundo corte as plantas tiveram maior desenvolvimento, corroborando a afirmação de Gomide et al (2009).

Para os parâmetros analisados, massa fresca da parte aérea (MFPA) e massa seca da parte aérea (MSPA) apresentaram diferença estatística entre os tratamentos com $p = 4,28e^{-06}$ e $p = 2,23e^{-3}$ respectivamente. Para MFPA os tratamentos s/FMA+40 doses e c/FMA+40 doses foram os que apresentaram maiores médias, 48,18 e 49,67 g planta⁻¹ respectivamente (Tabela 5 e Figura 17). Para MSPA os tratamentos sem FMA+40 doses, com FMA+20 doses, com FMA+40 doses e com FMA+80 doses mg kg⁻¹ de solo do metal apresentaram as maiores médias, com 9.25, 8.12, 9.66 e 8.49 respectivamente (Tabela 5 e Figura 18).

4 CONCLUSÃO

A *Urochloa brizantha* apresentou um bom desenvolvimento em solo contaminado com zinco, manganês e cobre, tendo assim um bom crescimento e sendo tolerante as diferentes doses dos metais potencialmente tóxicos. As doses das espécies metálicas não interferiram nos índices de clorofila.

Diante dos resultados ver-se que os Fungos Micorrizas Arbusculares não influenciaram de maneira significativa o desempenho da cultivar braquiária, isso se deve pelo curto tempo de experimento conduzido em casa de vegetação, sendo necessário novos estudos com um maior tempo de observação.

Conclui-se com esse estudo que a espécie de gramínea braquiária (*Urochloa brizanta*) tem potencial para ser utilizada como fitorremediadora em solos da região de Imperatri-MA, objeto deste estudo, tendo em vista o bom desenvolvimento que apresentou mesmo em altas concentrações de metais potencialmente tóxicos.

REFERÊNCIAS

ALCÂNTARA, A. J. O.; PIERANGELI, M. A. P. Composição gravimétrica dos resíduos sólidos urbanos e caracterização química do solo da área de disposição final do município de Cáceres-MT. **In:** Santos J. E.; Galbiati, C.; Moschini, L. E. **Gestão e Educação Ambiental: água, biodiversidade e cultura.** São Carlos: Editora Rima, 2011.

ANDRADE, F. M.; AMARAL SOBRILHO, N. M. B.; SANTOIA, F. S.; MAGALHÃES, M. O. L.; TOLO-BECERRA, A.; LIMA, L. S. Uso de EDTA na fitoextração induzida de chumbo e bário por braquiária (*B. decumbens* cv. Basilisk) em solo contaminado por resíduos de perfuração de poços de petróleo. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.36, n.4, p.495-500, 2014.

ARAÚJO, A. S. A.; GUILHERME, L. R. G.; CAMPOS, G. L. M. L. Fitorremediação de solos contaminados com arsênio (as) utilizando braquiária Phytoremediation of arsenic contaminated soils using Brachiaria grass. **Ciência e agrotecnologia**, v. 35, n.1, p.84-91, 2011.

BERTOLAZI, A.A; CANTONI, G. C.; AZEVEDO, I. G.; CRUZ, Z. M. A.; SOARES, D. N. E.S.; CONCEIÇÃO, J. M.; SANTOS, W. O.; RAMOS, A. O papel das ectomicorrizas na biorremediação dos metais pesados no solo. **Natureza on line**, v.8, n.1 p. 24-31, 2010.

BEVILACQUA, J. E.; SILVA, I. S.; CÉSAR MASINI, Extração seletiva de metais pesados em sedimentos de fundo do rio Tietê, São Paulo. **Química Nova**, n. 32, n. 1, p.26-33, 2009

CORDEIRO, C. T.; NUNES, R. M.; LANDA, G. G. Diagnóstico da área do antigo lixão do município de Nanuque, Minas Gerais, Brasil. **Acta Biologica Brasiliensia**, v.1, n.1, p.32-50, 2018.

COTTA, J. A. P. O.; REZENDE, M. O. O.; PIOVANI, M.R. Avaliação do teor de metais em sedimentos do rio Betari no Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira-PETAR, São Paulo, Brasil. **Química Nova**, v. 29, n, 1, p. 40-45, 2006.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**, 3º ed. rev. ampl. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, p.267, 2011.

GARCIA, K. G. V.; GOMES, V. F. F.; MENDES FILHO, P. F.; MARTINS, C. M.;

ALMEIDA, A. M. M.; SILVA JÚNIOR, J. M. T. Tolerância de *Mimosa caesalpiniaefolia*

Benth. associada a micorrizas arbusculares em substrato da mineração de manganês. **Revista Ciências Agrárias**. v. 60, n. 3, p. 247-255, jul./set. 2017.

GOMIDE, H. O.; SANTOS, J.; G.; D.; SIQUEIRA, J.; O.; SOUSA SOARES, C.; R.; F. Diversidade e função de fungos micorrízicos arbusculares em sucessão de espécies hospedeiras. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 4, n. 11, p. 1483–1490, 2009.

HERZIG, R., NEHNEVAJOVA, E., PFISTNER, C., SCHWITZGUEBEL. P., RICCI, A., & KELLER, C. (2014). Feasibility of Labile Zn Phytoextraction Using Enhanced Tobacco and Sunflower: Results of Five and One-Year Field-Scale Experiments in Switzerland.

MEKARU, T.; UEHARA, G. Anion adsorption in ferruginous tropical soils. **Soil Sei. Soc.Am. Proc.**, Madison, v.36, p. 296-300, 1972.

MUKHOPADHYAY, S., MUKHERJEE, S., HASHIM, M. A., SAHU, J.N., VILLEGAS, N. M., GUPTA, B. S. Zinc Removal from Soil by Washing with Saponin Obtained from *Sapindus mukorossi*. **Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.5, p. 4, p.2-8, 2018.

RAIJ, B. V.; ANDRADE, J. C.; CANTARELLA, H.; QUAGGIO, J. A. **Análise química para avaliação da fertilidade de solos tropicais**. Campinas: Instituto Agrônômico, 2001. 285 p.

SCHNEIDER, J.; OLIVEIRA, L. M.; STÜRMER, S. L.; SOARES, C. R. F. S.; GUILHERME, L. R. G. Espécies tropicais de Pteridófitas em associação com fungos micorrízicos arbusculares em solo contaminado com arsênio. **Química Nova**, v.35, n. 4, p.709-714, 2012.

SCHNEIDER, J., LABORY, C. R. G., RANGEL, W. M., ALVES, E., GUILHERME, L. R. G. Anatomy and ultrastructure alterations of *Leucaena leucocephala* (Lam.) inoculated with mycorrhizal fungi in response arsenic-contaminated soil. **Journal of Hazardous Materials**, v. 15, p. 1245-1258, 2013a.

SILVA, D. D. E.; FELIZMINO, F. T. A.; OLIEVIRA, M. G. Avaliação da degradação ambiental a partir da prática da cultura do feijão no município de Tavares-PB. **HOLOS**. Ano 31, v. 8, p. 148-164, 2015.

SMITH, S. E.; E. FACELLI, E.; POPE, S.; SMITH, F. A. Plant performance in stressful environments: interpreting new and established knowledge of the roles of arbuscular **mycorrhizas**, *Plant and Soil*, v. **326**, ed. 1-3, p.:3-20, 2010.

SOUZA, L. A.; ANDRADE, S. A. L.; SOUZA, S. C. R.; SCHIAVINATO, A. Tolerância e potencial fitorremediador de *Stizolobium aterrimum* associada ao fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* em solo contaminado por chumbo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.35, p. 1441-1451, 2011.

...ANDRADE, André Fernão Martins de *et al.* Uso de EDTA na fitoextração induzida e chumbo e bário por braquiária (*B. decumbens* cv. Basilisk) em solo contaminado por resíduos de perfuração de poços de petróleo. **Acta Sci., Agronegócio**, vol.36, n.4, pp.495-500, 2014.

ANTUNES ARAÚJO, A. S. GULHERME, L. R. G.; LOPES, G.; CAMPOS, M. L. **Fitorremediação de solos contaminados com arsênio(As) utilizando braquiária. Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 1, p. 84-91, jan./fev. 2011

ARAÚJO, A. S. A.; GUILHERME, L. R. G.; CAMPOS, G. L. M. L. Fitorremediação de solos contaminados com arsênio (as) utilizando braquiária *Phytoremediation of arsenic-contaminated soils using Brachiaria grass. Ciência e agrotecnologia*, v. 35, 2011.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DE SOUZA MOREIRA, F. M. Estabelecimento de plantas herbáceas em solo com contaminação de metais pesados e inoculação de Fungos micorrízicos arbusculares. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 36, n. 12, p. 1443–1452, dez. 2001.

CARNEIRO, M. A. C.; SIQUEIRA, J. O.; DE SOUZA MOREIRA, F. M. Comportamento de espécies herbáceas em misturas de solo com diferentes graus de contaminação com metais pesados. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 37, n. 11, p. 1629–1638, 2002.

DAZY, M.; BÉRAUD, E.; COTELLE, S.; GRÈVILLIOT, F.; FÉRARD, J.F.; MASFARAUD, J. F. Changes in plant communities along soil pollution

gradients: responses of leaf antioxidant enzyme activities and phytochelatin contents. **Chemosphere**, v. 77, n. 3, p. 376–383.

ESTRELA, M. A.; GAROFALO CHAVES, L. H.; SILVA, L. N. Fitorremediação como solução para solos contaminados por metais pesados. **Revista Ceuma Perspectivas**, v. 31, p. 160-172, 2018.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T. H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species Extracted from soil wet sieving and decanting. **Transactions of British Mycological Society**, Cambridge, v. 46, n. 2, p. 235-244, Apr. 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular- arbuscular mycorrhizal infection on roots. **New Phytologist**, Oxford, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.

GÖHRE, V.; PASZKOWSKI, U. Contribution of the Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis to Heavy Metal Phytoremediation. **Planta**, 223, 1115-1122, 2006.

GUIRRA, A. P. P. M.; FIORENTIN, C. F.; PRADO, R. M.; CAETANO, M. C. T.; FELICI, C. Tolerância do capim marandu a doses de manganês. **Bioscience Journal**, v. 27, n. 3, p. 413-419, 2011.

JAVOT, H.; PENMETS, R. V.; TERZAGHI, N.; COOK, D. R.; HARRISON, M. J. A *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 104, p. 1720-1725, 2007.

MARTINEZ, M. S.; CRUVINEL, D. F. C.; BARATTO, D. M. Avaliação da Fitorremediação de solos contaminados com metais pelo capim braquiária e mostarda da Índia. **Revista DAE**, n. 191, p. 30-37, 2013.

MONQUERO, P. A.; CÔRREA, M. C.; BARBOSA, L. N.; GUTIERREZ, A., ORZARI, I.; HIRATA, A. C. S. Seleção de espécies de adubos verdes visando à fitorremediação de Diclosulam. **Planta Daninha**, v. 31, n.1, p. 127-135, 2013.

NADGÓRSKA-SOCHA, A.; KANDZIORA-CIUPA, M.; CIEPAŁ, R. (2015). Element accumulation, distribution, and phytoremediation potential in selected metallophytes growing

in a contaminated area. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 187, n. 441, p. 1-15, 2015.

OLIVEIRA, J. D. **Espécies metálicas no Ribeirão Lavapés, Botucatu-SP: estudos envolvendo a distribuição de Cu, Zn, Pb, Ni, Fe, Mn e Cr em amostras de água e sedimentos**. 2006. 166 f. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2006.

PARKS, J. L.; MCNEILL, L.; FREY, M.; EATON, A. D.; HAGHANI, A.; RAMIREZ, L.; EDWARDS, M. Determination of total chromium in environmental water samples. **Water Research**, v. 38, p. 2827- 2838, 2004.

PEUKE, A.D.; RENNENBERG, H. Phytoremediation: Molecular biology, requirements for application, environmental protection, public attention and feasibility. **European Molecular Biology Organization** 6: 497-50, 2005.

ROMEIRO, S. et al. Absorção de chumbo e potencial de fitorremediação de *Canavalia ensiformes* L. **Bragantia**, v. 66, n. 2, p. 327–334, 2007.

SAGGIN, O. J.; SILVA, E. M. R. da. Micorriza arbuscular - Papel, funcionamento e aplicação da simbiose. In: AQUINO, A. M. de; ASSIS, R. L. de. **Processos biológicos no sistema solo-planta: ferramentas para uma agricultura sustentável**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. cap. 5.p. 101- 149. 2005.

SANTOS, F. S.; AMARAL SOBRINHO, N. M. B.; NASCIMENTO, V. S.; HOFFMANN, R.; MAZUR, N. Fitorremediação por *Brachiaria humidicola* de área de disposição de um resíduo perigoso. **Floresta e Ambiente**, V.12, n.1, p. 22 - 29, 2005.

SCHÜBLER, A.; SCHWARZOTT, D.; WALKER, C. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. **Mycological Research, Cambridge**, v. 105, p. 1413-1421, 2001.

SILVA, D. D. E.; FELIZMINO, F. T. A.; OLIVEIRA, M. G. Avaliação da degradação ambiental a partir da prática da cultura do feijão no município de Tavares-PB. **HOLOS**. Ano 31, v. 8, p. 148-164, 2015.

SOUZA, L. A.; ANDRADE, S. A. L.; SOUZA, S. C. R.; SCHIAVINATO, A. Tolerância e potencial fitorremediador de *Stizolobium aeternum* associada ao fungo micorrízico arbuscular *Glomus etunicatum* em solo contaminado por chumbo. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**, v.35, p. 1441-1451, 2011.

VILLAR, M. L. P. **Manual de interpretação de análise de plantas e solos e recomendação de adubação**. 35. ed. Cuiabá-MT: EMPAER-MT, 2007.

GERDEMANN, J.W.; NICOLSON, T.H. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of British Mycological Society*, Cambridge, U.K., v. 46, n.2, p.235-244, 1963.

GIOVANNETTI, M.; MOSSE, B. An evaluation of techniques to measure vesicular- arbuscular mycorrhizal infection on roots. *New Phytologist*, Oxford, v. 84, n. 3, p. 489-500, 1980.

GUIRRA, A. P. P. M.; FIORENTIN, C. F.; PRADO, R. M.; CAETANO, M. C. T.; FELICI, A. C. Tolerância do capim marandu a doses de manganês. *Bioscience Journal*, v. 27, n. 3, p. 413-419, 2011.

JENKINS, W. R. A rapid centrifugal – flotation technique for separating nematodes from soil. *Plant Disease Report*, v. 48, 1964. p. 692.